



**HAL**  
open science

# Les cancers du sein moléculaires apocrines : revue de la littérature et étude originale à partir du matériel tumoral de l'essai EORTC 10994 / BIG 1-00

Fanny Pommeret

## ► To cite this version:

Fanny Pommeret. Les cancers du sein moléculaires apocrines : revue de la littérature et étude originale à partir du matériel tumoral de l'essai EORTC 10994 / BIG 1-00 . Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01415886

**HAL Id: dumas-01415886**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01415886>**

Submitted on 13 Dec 2016

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE DE BORDEAUX  
U.F.R DES SCIENCES MEDICALES**

Année 2016

N° 3157

**Thèse pour l'obtention du  
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**  
Présentée et soutenue publiquement le 24 octobre 2016  
Par Fanny POMMERET  
Née le 15 juillet 1987 à Brive-la-Gaillarde (19)

**LES CANCERS DU SEIN MOLECULAIRES APOCRINES: REVUE DE LA  
LITTERATURE ET ETUDE ORIGINALE A PARTIR DU MATERIEL TUMORAL  
DE L'ESSAI EORTC 10994 / BIG 1-00**

**Directeur de thèse**

M. le Professeur Hervé BONNEFOI

**Rapporteur**

Mme. le Docteur Meriem MOKDAD-ADI

**Jury**

M. le Professeur Alain RAVAUD  
M. le Professeur Emmanuel BUSSIERES  
M. le Professeur Guy Kantor  
M. le Docteur Gaëtan MAC GROGAN  
Mme. le Docteur Christel BRETON-CALLU  
M. le Professeur Hervé BONNEFOI

Président  
Juge  
Juge  
Juge  
Juge  
Juge

# REMERCIEMENTS

J'exprime toute ma reconnaissance et adresse mes remerciements aux membres du jury de cette thèse :

Au Président du Jury

**Monsieur le Professeur Alain Ravaud**

Vous m'honorez en présidant cette thèse.

Vous avez veillé sur moi et sur ma formation, depuis mon premier semestre d'internat jusqu'à aujourd'hui.

Avec vous, j'ai appris la rigueur, le goût de la recherche, et toute la finesse et la beauté de la relation médecin-patient en oncologie.

Vous m'avez soutenue dans les épisodes difficiles, et je vous dois d'être ici aujourd'hui.

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect, et de ma plus sincère reconnaissance

Aux membres du jury

**Monsieur le Professeur Emmanuel Bussières**

Vous me faites l'honneur de juger ce travail.

Lors de mes semestres à l'Institut Bergonié, j'ai pu découvrir vos grands talents de chirurgien, votre expérience médicale, et votre sagesse. J'ai aussi bénéficié de vos enseignements de grande qualité.

Je tiens à vous exprimer toute mon estime et ma reconnaissance

**Monsieur le Professeur Guy Kantor**

Je suis très honorée que vous participiez à ce jury de thèse. Merci d'avoir accepté d'y siéger si rapidement.

J'ai pu profiter de votre enseignement et de votre grande expérience médicale, lors de mon semestre en radiothérapie et lors des comités sarcomes. Vous m'avez régulièrement conseillée et soutenue.

Veillez trouver ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon profond respect.

**Monsieur le Docteur Gaëtan Mac Grogan**

Merci de participer à ce jury de thèse.

Tu m'as beaucoup soutenue pour la réalisation de cette thèse. Tu en as été un acteur principal, entre la construction du TMA et sa lecture, et tous tes conseils précieux.

Tu m'as fait apprécier ta spécialité, et surtout tu m'as transmis ton enthousiasme pour les nouvelles techniques de caractérisation moléculaire des tumeurs.

Mon semestre en anatomo-pathologie a été très enrichissant, et fondateur pour la suite de mon parcours.

Reçois toute ma gratitude, et ma profonde estime.

**Madame le Docteur Christel Breton-Callu**

Je suis très touchée que vous ayez accepté de juger ce travail.

J'ai beaucoup appris en travaillant à vos côtés, tant pendant mon semestre en radiothérapie, que pendant les RCP.

Merci pour l'attention que vous portez à chacun de nous.

Veillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A mon rapporteur

**Madame le Docteur Meriem Mokdad Adi**

Tu m'as fait l'honneur d'accepter de relire ce travail.

Merci pour les corrections que tu as apportées à cette thèse.

Travailler à tes côtés est un vrai privilège. Ton expérience et ta rigueur m'ont fait progresser.

Merci pour ton engagement auprès des patientes, et auprès des équipes.

Reçois ici le témoignage de ma profonde gratitude et de mon amitié.

A mon directeur de thèse

**Monsieur le Professeur Hervé Bonnefoi**

Merci de m'avoir confié ce travail qui vous tenait à cœur. Merci de m'avoir conseillée et encadrée avec efficacité, même lorsque la distance l'a rendu plus difficile.

Merci de m'avoir fait découvrir et apprécier le monde de la cancérologie mammaire. J'ai pu bénéficier lors de mes stages de votre expérience clinique et de la qualité de vos enseignements, en particulier lors des colloques et des comités. J'admire votre vision et votre engagement dans la recherche clinique.

Merci de m'avoir fait confiance, et de m'avoir beaucoup encouragée.

Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect, et de ma plus grande reconnaissance.

A ceux qui m'ont donné le goût et la soif de la médecine, qui m'ont accompagnée et inspirée.

A mes grands-pères, les Docteurs Jean Brodin et Louis Pommeret. Vous avez embrassé la médecine comme un sacerdoce, et vous êtes engagés totalement dans le soin de vos patients, et de leurs familles. Ce métier vous a permis de vous épanouir intellectuellement, et de vous mettre au service de votre prochain. Merci de m'avoir transmis votre passion. Et merci à mes grands-mères, pour avoir aidé à tenir bon !

A mon oncle, le Professeur Marc Brodin. Ton engagement pour la Santé Publique, tes projets internationaux m'ont fait rêver. J'admire ta force de travail et tes idées visionnaires. Merci de m'avoir soutenue, et de m'avoir donné confiance en moi.

A ma cousine, le Docteur Odile Pélissier-Brodin. J'ai eu la chance de découvrir ta pratique, ta relation incroyable avec tes patients, ton sens clinique très fin. Tu es un très bon médecin, et tu continues à m'inspirer.

Au Centre Laennec, et à tous les médecins que j'y ai rencontrés, étudiants, conférenciers. Je me suis formée humainement et scientifiquement à travers les conférences, et nos échanges sur la médecine et nos pratiques. A ma sous-colle de PCEM1 : Tiphaine, Gaëtan et Marie. A ma sous-colle de l'ECN : Ester, Marie et Mathilde.

A tous ceux qui m'ont appris la médecine

A tous les médecins, chefs de clinique, internes des services où je suis passée comme externe. A tous les enseignants de la Faculté René Descartes- Paris V.

A tous ceux qui m'ont formée pendant mon internat, médecins et équipes soignantes :

Du service d'hématologie de Haut Lévêque, en particulier au Professeur Noël Milpied  
D'oncologie à Pau, aux Docteurs Corinne Dagada et Isabelle Loury

Du service d'oncologie de Saint André, et surtout aux Docteurs Marine Gross-Goupil,  
Nathalie Trufflandier, Laurence Digue, Denis Smith et Sophie Roca.

De radiothérapie de Bergonié, et en particulier aux Docteurs Adeline Petit et Laurence  
Thomas.

Du 2<sup>e</sup> étage à Bergonié, notamment au Professeur Dominique Béchade, aux Docteurs Anne  
Floquet, Delphine Garbay, Marianne Fonck et Nathalie Le Gall

De réanimation à Saint André, et surtout aux Docteurs Fabrice Camou, Olivier Guisset et  
Gaëlle Mourrissoux

Du 4<sup>e</sup> étage à Bergonié. Un immense merci au Professeur Antoine Italiano, et aux Docteurs  
Guilhem Roubaud, Mikaël Desroches et Maud Toulmonde qui m'ont tant appris. Merci aux  
Docteurs Binh Bui, Marc Debled, Nathalie Quenel-Tueux, Louis Mauriac. Merci aussi à toute  
l'équipe soignante, et à l'équipe des Essais Précoces

Du service d'anatomo- pathologie de Bergonié, notamment au Professeur Jean-Michel  
Coindre, aux Docteurs Sabrina Croce et Marie Karanian. Merci aussi à Valérie Velasco.

Au Docteur Suzette Delalogue, pour m'avoir accueillie si chaleureusement en pathologie  
mammaire à Gustave Roussy.

Au Docteur Catherine Lhomme, pour son enseignement clinique, pour sa rigueur, pour  
m'avoir tant conseillée et aidée cette année. C'est aussi grâce à vous que j'en suis là  
aujourd'hui.

Aux Docteurs Patricia Pautier, Alexandra Leary, Judith Michels, merci de m'accueillir en  
gynécologie. C'est une grande joie de soigner et d'apprendre à vos côtés.

A toute l'équipe de l'hôpital de jour, du comité gynéco et à Caroline, pour leur soutien !

A ma Famille

A mes parents. Vous m'avez toujours soutenue, accompagnée, et vous avez rattrapé mes erreurs, même dans les moments les plus difficiles. Votre amour me donne confiance, et me rend libre. Vous m'avez transmis vos valeurs et votre éthique, et j'admire vos engagements, vos vies fécondes et riches.

A mes nombreux oncles et tantes. Vous comptez beaucoup pour moi.

A mes cousins, mes presque frères et sœurs.

A Camille, merci pour ton soutien sur lequel je sais toujours compter, ton esprit brillant, ta gaieté.

A Loïc, pour ton écoute et ton empathie, et merci d'avancer encore, loin devant nous.

A Marie-Laure, merci pour ton enthousiasme, pour la richesse de nos discussions.

A Jérôme, pour tes choix courageux et libres.

A Denis, Fabien, Floriane, Alexandre... pour nos joyeux souvenirs d'enfance.

A Zahra, merci pour ton précieux soutien, pour ton courage, pour être le ciment qui nous lie.

A mes grandes cousines, Claire, Marielle, Laëtitia, Gwladys, merci pour vos fines attentions, et votre gentillesse.

A Solen, ma filleule. Je suis fière d'être ta marraine.

A Elodie, Karim, Manu, Léonore, Charles-Louis, Théo...pour notre amitié.

A mes amis

Aux amis du Limousin ! Sabine, Françoise et Victor, Jeanne et Eric, et toute l'ASE. Pour tous ces souvenirs gais et ensoleillés, cette incroyable liberté

A mes amis carabins: Tiphaine, Louis, Sabine, Sophie, David, Pierre-Louis, Aurore, Priscille, Raoul, Marie, Lionel... Pour tous ces échanges autour de la médecine, pour les dîners à Laennec, pour les vacances partagées... merci pour votre écoute, votre soutien dans les moments difficiles, votre humour !

A mes anciens co-internes : A Florie, Thomas et Louis, Camille, Charlotte et Gratiane, Rémi, Stéphanie et Amaury, à Julie, Valérie et Pauline... Pour les séminaires de l'ASIO, vos conseils avisés et votre soutien...

Et à tous mes co-internes et co-chefs de Gustave Roussy : Shanna, Cristina, Alain, Ralph, Yolla, Céline, Margarida, Gabi, Manuel...

Aux Bordelais : Jordane, Florence, Benoit, Bertrand, Jean-Baptiste et Virginie, Pierre-Alain...

Aux amis du Mexique, du Sinäï, à Pauline et Alban... Nous avançons ensemble !

A Audrey et Constance, mes colocs. Merci pour votre accueil, votre délicatesse, pour nos discussions profondes et enrichissantes, et le témoignage de vos engagements.

# TABLE DES MATIERES

<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>2</b>
<b>TABLE DES MATIERES.....</b>	<b>10</b>
<b>ABBREVIATIONS .....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>15</b>
<b>I) LES CANCERS DU SEIN ET LE SOUS-TYPE MOLECULAIRE APOCRINE.....</b>	<b>17</b>
I.1) EPIDEMIOLOGIE DU CANCER DU SEIN .....	17
I.1.A) Aux Etats-Unis.....	17
I.1.B) En Europe.....	17
I.1.C) En France.....	17
I.2) LES DIFFERENTS SOUS-TYPES .....	18
I.2.A) Concepts prévalant avant 2000.....	18
I.2.A.a) Les facteurs histologiques .....	18
I.2.A.a.1) La Classification OMS des carcinomes infiltrants .....	18
I.2.A.a.2) Taille tumorale .....	19
I.2.A.a.3) Envahissement ganglionnaire.....	19
I.2.A.a.4) Le grade histologique.....	19
I.2.A.a.5) Les embolies vasculaires péri-tumoraux .....	20
I.2.A.b) Les facteurs biologiques et moléculaires.....	20
I.2.A.b.1) Les récepteurs aux estrogènes et à la progestérone.....	20
I.2.A.b.2) L'oncogène Her2.....	22
I.2.A.b.3) Le marqueur de prolifération Ki67 .....	22
I.2.B) Premier niveau de segmentation : analyse transcriptomique .....	23
I.2.B.a) Rappel sur les méthodes d'analyse transcriptomique.....	23
I.2.B.b) Description initiale de la classification moléculaire des cancers du sein .....	24
I.2.B.c) Limites de la classification moléculaire .....	26
I.2.B.d) La PAM50 .....	28
I.2.B.e) La classification moléculaire simplifiée .....	28
I.2.B.f) Autres classifications moléculaires .....	29
I.2.C) Deuxième niveau de segmentation : autres techniques.....	30
I.3. PRINCIPES GENERAUX DES TRAITEMENTS DU CANCER DU SEIN .....	34
I.3. A) Traitement au stade précoce.....	34
I.3.A.a) La chirurgie.....	34
I.3.A.b) La radiothérapie.....	35
I.3.A.c) La chimiothérapie.....	36

I.3.A.d) L'hormonothérapie.....	38
<i>I.3.B) Traitements au stade avancé.....</i>	<i>39</i>
I.3.B.a) Tumeurs lumorales .....	40
I.3.B.b) Tumeurs Her2+ .....	40
I.3.B.c) Tumeurs triple négatives .....	41
<b>I. 4) IDENTIFICATION DES TUMEURS MOLECULAIRES APOCRINES.....</b>	<b>42</b>
<i>I.4.A) Identification princeps.....</i>	<i>42</i>
<i>I.4.B) Autres descriptions des tumeurs moléculaires apocrines .....</i>	<i>45</i>
<i>I.4.C) Différences avec le carcinome apocrine du sein.....</i>	<i>46</i>
<i>I.4.D) Oncogénèse des tumeurs moléculaires apocrines.....</i>	<i>47</i>
<b>I.5) VOIE DES ANDROGENES.....</b>	<b>49</b>
<i>I.5.A) Rappel sur le récepteur aux androgènes et ses ligands.....</i>	<i>49</i>
<i>I.5.B) Le rôle complexe des androgènes dans la carcinogénèse mammaire .....</i>	<i>51</i>
<i>I.5.C) Action des androgènes dans les tumeurs ER+ .....</i>	<i>51</i>
I.5.C.a) Tumeurs ER+ hormono-sensibles.....	52
I.5.C.b) Tumeurs ER+ hormono-résistantes .....	53
<i>I.5.D) Action des androgènes dans les tumeurs triple négative AR+ .....</i>	<i>54</i>
<i>I.5.E) Action des androgènes dans les tumeurs ER négatives, Her2+/AR+ .....</i>	<i>55</i>
<b>I.6) FREQUENCE ET HISTOIRE NATURELLE DES TUMEURS MOLECULAIRES APOCRINES .....</b>	<b>59</b>
<i>I.6.A) Dans les études transcriptomiques .....</i>	<i>59</i>
<i>II.3.B) Dans les séries immunohistochimiques.....</i>	<i>62</i>
I.6.B.a) Incidence des tumeurs AR+ .....	63
I.6.B.b) Caractéristiques cliniques et histologiques, résultats de survie dans des séries rétrospectives .....	64
I.6.B.c) Survie et réponse à la chimiothérapie dans des études prospectives .....	65
<b>I.7) THERAPEUTIQUES CIBLANT LA VOIE DES ANDROGENES.....</b>	<b>68</b>
<i>I.7.A) Les traitements.....</i>	<i>68</i>
I.4.A.a) Les anti-androgènes de 1 <sup>e</sup> génération .....	68
I.7.A.b) Anti-androgène de 2 <sup>e</sup> génération : l'Enzalutamide .....	69
I.7.A.c) Inhibiteur de la biosynthèse des androgènes : l'acétate d'abiratérone .....	71
<i>I.7.B) Résultats des essais cliniques dans les cancers du sein moléculaires apocrines.....</i>	<i>72</i>
I.7.B.a) Etude du groupe Nord Américain avec le bicalutamide .....	72
I.7.B.b) Etude internationale avec l'enzalutamide .....	73
I.7.B.c) Etude du groupe français UCBG avec l'acétate d'abiratérone .....	74
<i>I.7.C) Perspectives thérapeutiques.....</i>	<i>75</i>
I.7.C.a) Prochaine génération des anti-androgènes ciblant le LBD.....	75
I.7.C.b) Inhibiteurs de la biosynthèse des androgènes .....	76
I.7.C.c) Inhibiteur des protéines chaperons.....	76
I.7.C.d) Double inhibition de AR et d'autres voies de signalisation .....	77
<b>II) TRAVAIL ORIGINAL .....</b>	<b>79</b>

II.1) INTRODUCTION .....	79
II.2) PATIENTS ET METHODES.....	82
<i>II.2.A) Design de l'étude, critères d'éligibilité et traitements</i> .....	82
<i>II.2.B) Analyse histologique</i> .....	83
II.2.B.a) Conditions de l'analyse histologique .....	83
II.2.B.b) Analyse du statut TP53 .....	84
II.2.B.c) La construction du Tissue Micro-Array .....	84
II.2.B.d) Méthode et interprétation immunohistochimiques .....	84
II.2.B.e) Définition des différents sous-types moléculaires.....	85
<i>II.2.C) Objectifs et critères d'évaluation</i> .....	86
<i>II.2.D) Analyse statistique</i> .....	87
II.3) RESULTATS .....	89
II.3.A.a) Fréquence, caractéristiques et traitements reçus.....	90
II.3.A.b) Réponse complète histologique.....	93
II.3.A.c) Résultats de survie.....	94
<i>II.3.B) Autres sous-types et comparaison avec le sous-type moléculaire apocrine</i> .....	97
II.3.B.a) Fréquence, caractéristiques et traitements reçus.....	97
II.3.B.b) Réponse histologique et résultats de survie .....	97
II.4) DISCUSSION.....	100
<i>II.4.A) Utilisation d'un Tissue Micro-Array</i> .....	100
<i>II.4.B) Choix des marqueurs et choix des seuils de positivité</i> .....	101
<i>II.4.C) Fréquence et caractéristiques des tumeurs moléculaires apocrines dans notre population</i> .....	103
<i>II.4.D) Taux de réponse histologique complète</i> .....	104
<i>II.4.E) Résultats de survie</i> .....	105
<i>II.4.D) Perspectives</i> .....	106
II.5) CONCLUSION.....	108
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>109</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>110</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>138</b>
<b>RESUME .....</b>	<b>143</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>144</b>
<b>SERMENT MEDICAL.....</b>	<b>145</b>

# Abbréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AJCC : American Joint Committee on cancer

ARN : Acide Ribonucléique

ARE : Androgen Responsive Element

ASCO : American Society of Clinical Oncology

BIG : Breast International Group

CBR : Clinical Benefice Rate

CAP : College of American Pathologists

CGH : Comparative Genomic Hybridization

CR : Complete Response

CRPC : Cancer de la Prostate Résistant à la Castration

Cen17 : centromère du chromosome 17

DHEA : Déhydroépiandrostérone

DHT : Dihydrotestostérone

DRFI : Intervalle sans Rechutes à distance

EBTCG : Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

EORTC : European Organisation for Research and Treatment of Cancer

ESMO : European Society for Medical Oncology

ERE : Estrogen Responsive Element

ET : Epirubicine Docetaxel

FEC : Fluorouracile Epirubicine Cyclophosphamide

GEFPICS : Groupe d'Etude sur les facteurs Pronostiques en IHC dans les Cancers du Sein

FISH : Fluorescence In Situ Hybridization

Her2 : Human Epidermal Growth factor Receptor 2

Her2+/ Her2- : exprimant : n'exprimant pas Her2

HR : Hazard Ratio

IHC : Immunohistochimie

INCA : Institut National du Cancer

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LAR : Luminal Androgen Receptor  
LBD : Ligand Binding Domain  
MA : Moléculaire Apocrine  
N+/ N- : avec/sans envahissement ganglionnaire  
OR : Odds Ratio  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
OS : Survie Globale  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PR : Partial Response  
PSA : Prostate Specific Antigen  
RA : Récepteur aux androgènes  
RA+/RA- : exprimant/ n'exprimant pas le récepteur aux androgènes  
RCH : Réponse Complète Histologique  
RE : Récepteur aux estrogènes  
RE+/RE- : exprimant/ n'exprimant pas ER  
RPg : récepteur à la progestérone  
RPg+ / RPg- : exprimant/ n'exprimant pas PgRqRT-PCR : Real Time Quantitative reverse  
Transcription PCR  
RFI : Intervalle sans Rechute  
RH+/ RH- : exprimant/ n'exprimant pas les récepteurs ER et PgR  
SD : Stable Disease  
SEER : Surveillance Epidemiology and End Results Program  
TMA : Tissue Micro-Array  
TEP : Positron Emission Tomography  
TNM : Tumor, Node, Metastasis

## Introduction

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Il s'agit d'une maladie très hétérogène constituée de plusieurs sous-types dont le profil biologique, le pronostic et la réponse aux traitements diffèrent fortement. En 2000, l'équipe de Perou et Sorlie, en analysant le profil d'expression de nombreux cancers du sein, a établi une classification nommée classification intrinsèque, qui est devenue la référence pour décrire la taxonomie de ces tumeurs (C. M. Perou et al. 2000). Une version simplifiée basée sur le profil immunohistochimique des tumeurs a été créée (Goldhirsch et al. 2011). Par la suite des sous-types initialement non décrits dans la classification intrinsèque ont été identifiés, parmi lesquels le sous-type moléculaire apocrine.

Ce sous-type a été nommé moléculaire apocrine car ces tumeurs présentent des caractéristiques histologiques de différenciation apocrine (Farmer et al. 2005). Ce sous-type est caractérisé par l'expression du récepteur aux androgènes RA, l'absence d'expression du récepteur aux oestrogènes RE $\alpha$ , et l'expression paradoxale de gènes habituellement exprimés par les tumeurs lumineales (Farmer et al. 2005; Doane et al. 2006; Lehmann et al. 2011) (Farmer et al. 2005). Dans les études de profils d'expression, les tumeurs moléculaires apocrines représentent 8 à 11% de l'ensemble des tumeurs mammaires. Un tiers sont Her2-, et deux tiers Her2+. (Farmer et al. 2005; Guedj et al. 2012). Par ailleurs, dans une grande série avec analyse immunohistochimique, 36% des tumeurs triple négatives sont AR+. (Collins et al. 2011) En France 50 000 nouveaux cas de cancers du sein sont diagnostiqués chaque année. Ainsi, l'incidence des tumeurs moléculaires apocrines Her2- est de 1500 à 2500 selon que ces tumeurs sont identifiées par une analyse transcriptomique ou immunohistochimique. Une part significative des ces patientes rechutent : 35 à 45% à 5 ans (Lehmann et al. 2011; Guedj et al. 2012; Loibl et al. 2011). Les tumeurs moléculaires apocrines Her2-, ne sont pas sensibles aux traitements hormonaux anti-estrogènes ni aux traitements anti-Her2. Les patientes reçoivent donc successivement plusieurs lignes de chimiothérapie. Les tumeurs moléculaires apocrines Her2+ sont moins étudiées, mais semblent avoir un pronostic proche de celui des tumeurs moléculaires apocrines Her2-. Les patientes peuvent recevoir des traitements anti Her2, mais les tumeurs développent des résistances et progressent (Ni et al. 2011). Les traitements ciblant la voie des androgènes

sont une perspective thérapeutique très intéressante pour les tumeurs moléculaires apocrines. Une meilleure connaissance de l'histoire naturelle de ces tumeurs, et notamment de leur chimiosensibilité est un prérequis nécessaire au développement et à la poursuite des essais thérapeutiques.

Dans cette thèse, nous présenterons tout d'abord une revue de la littérature concernant les tumeurs moléculaires apocrines. Nous présenterons ensuite les résultats d'un travail original, réalisé à partir du matériel tumoral, inclus dans un TMA, de l'étude de phase III EORTC 10994/ BIG 1-00 (Hervé Bonnefoi et al. 2011). Ce travail aura pour but d'analyser la fréquence, le taux de réponse complète histologique et la survie des tumeurs moléculaires apocrines. Ces résultats seront mis en perspective avec les résultats des autres sous-types tumoraux.

# **I) Les cancers du sein et le sous-type moléculaire apocrine**

## **1) Epidémiologie du cancer du sein**

### **1.1) Aux Etats-Unis**

Les registres du SEER estiment le nombre de nouveaux cas de cancer du sein en 2013 à 231,840, soit 14% de l'ensemble des nouveaux cas de cancer. L'âge médian au diagnostic est de 61 ans(Siegel, Miller, and Jemal 2015). Les décès par cancer du sein sont estimés pour 2015 à 40290, soit 6,8% de l'ensemble des décès par cancer. L'âge médian au décès est de 68 ans. La survie à 5 ans est fonction du stade au diagnostic. Elle est de 98,6% pour les cancers localisés sans envahissement ganglionnaire, 84,9% pour les cancers localisés avec envahissement ganglionnaire, 25,5% pour les cancers métastatiques("Cancer of the Breast - SEER Stat Fact Sheets" 2015).

### **1.2) En Europe**

Les données des registres européens rassemblées par l'European Cancer Observatory estiment le nombre de nouveaux cas de cancer du sein à 464 000 cas pour 2012, soit 13,5% de l'ensemble des cas de cancer. Les décès par cancer du sein sont estimés à 131 000, soit 16,8% des décès par cancer(Ferlay et al. 2013).

### **1.3) En France**

Les données des registres départementaux, collectées par l'Inca, estiment le nombre de nouveaux cas de cancer du sein en 2012 à 48 763. L'incidence standardisée à la population mondiale a augmenté, passant de 56,3/ 100 000 femmes/an en 1980, à 97,8 pour 100 000 femmes/an en 2005. Le nombre de décès par cancer du sein pour 2012 est estimé à 11 886. La mortalité standardisée à la population mondiale a diminué, passant de 19,2/100 000 femmes/an en 1980, à 18,9 en 2005, et 15,7/ 100 000femmes/an en 2015("Les Données - Institut National Du Cancer" 2015).

## **2) Les différents sous-types**

La publication en 2000, par l'équipe de Perou et Sorlie, de la Classification moléculaire des cancers du sein, a révolutionné l'approche de la pathologie mammaire (Charles M. Perou et al. 2000). D'autres études de profils d'expression génique ont ensuite confirmé cette approche.

Elle a permis d'envisager le cancer du sein non comme une maladie unique avec des formes morphologiques diverses, mais plutôt comme un groupe de maladies néoplasiques biologiquement très différentes.

### **2.1) Concepts prévalant avant 2000**

Le carcinome infiltrant est une prolifération tumorale dépassant la membrane basale, dont l'origine est l'unité terminale ducto-lobulaire, comme montré dans les travaux de Wellings et Jensen (Wellings, Jensen, and Marcum 1975).

Leur description reposait avant 2000 sur la classification OMS des carcinomes infiltrants, à laquelle étaient associés d'autres facteurs prédictifs et pronostics, histologiques et moléculaires.

#### **2.1.1) Les facteurs histologiques**

##### **2.1.1.1) La Classification OMS des carcinomes infiltrants**

La classification OMS des carcinomes infiltrants de 2003 (Tavassoli et al. 2003), revue en 2012 (Lakhani, International Agency for Research on Cancer, and World Health Organization 2012), met en évidence les principaux sous-types et leurs spécificités anatomo-cliniques. Elle est décrite en annexe 1.

Le carcinome infiltrant de type non spécifique (CI-NST) n'entre dans aucun sous-type. C'est la forme la plus fréquente, représentant environ 75% des carcinomes mammaires (Colleoni et al. 2012). La majeure partie des études transcriptomiques porte sur ce sous-type, et ont montré qu'il s'agit d'un groupe très hétérogène, avec des pronostics variables.

Le carcinome lobulaire représente 5 à 15% des carcinomes infiltrants (Arpino et al. 2004). Il est caractérisé par l'inactivation de la E-Cadhérine, gène suppresseur de tumeur codant pour une protéine d'adhésion cellulaire (Berx et al. 1995; Da Silva et al. 2008; Christgen and Derksen 2015). Histologiquement, il présente des cellules non cohésives, avec un index mitotique bas, et il est fréquemment multifocal.

On distingue aussi les carcinomes dits « de bon pronostic » : les carcinomes tubuleux, mucineux, adénoïdes kystiques et cribriiformes (Colleoni et al. 2012).

Parmi les carcinomes rares, on distinguera le carcinome médullaire, le carcinome micropapillaire invasif, le carcinome sécrétant juvénile, et les carcinomes métablasiques.

#### **2.1.1.2) Taille tumorale**

La taille est un facteur pronostic essentiel, dans les cas avec et sans envahissement ganglionnaire (Narod 2012; Fitzgibbons et al. 2000)(Saadatmand et al. 2015).

La taille est aussi corrélée à l'envahissement axillaire (Carter, Allen, and Henson 1989). L'extension à la paroi thoracique ou à la peau, ainsi que le caractère inflammatoire sont aussi des facteurs de mauvais pronostics.

#### **2.1.1.3) Envahissement ganglionnaire**

L'envahissement ganglionnaire confère un pronostic défavorable. Le nombre de ganglions envahis, (Dabakuyo et al. 2008) ainsi que l'atteinte des ganglions de la chaîne mammaire interne et de l'étage axillaire supérieur sont de plus mauvais pronostic.

Les cellules tumorales isolées et les micrométastases (Loo et al. 2013; Boer et al. 2010) ont une valeur pronostique plus incertaine. Elles sont associées à un risque accru d'envahissement ganglionnaire (van Deurzen et al. 2008; Viale et al. 2005).

La taille et l'envahissement local, ainsi que l'envahissement ganglionnaire sont intégrés dans la classification TNM, actualisée en 2010 par l'AJCC, décrite en annexe 2 (*AJCC Cancer Staging Manual | Stephen Edge | Springer 2015*).

#### **2.1.1.4) Le grade histologique**

Le grade histologique de Scarff Bloom et Richardson modifié par Elston et Ellis (Elston and Ellis 1991) est le score le plus utilisé aujourd'hui en Europe. Il prend en compte 3 critères

histologiques, côtés de 1 à 3 : la différenciation tubulo-glandulaire de la tumeur, le pléomorphisme nucléaire et le compte des mitoses.

Il constitue un facteur pronostic essentiel pour le risque métastatique et la survie globale, et indépendant de la taille tumorale et de l'envahissement ganglionnaire (Rakha et al. 2008).

#### **2.1.1.5) Les embolies vasculaires péri-tumorales**

Les embolies vasculaires sont des agrégats de cellules carcinomateuses, flottant dans la lumière des vaisseaux lymphatiques ou sanguins péri-tumorales.

La présence d'embolies vasculaires péri-tumorales est un facteur pronostique important, pour la survie globale et la survie sans métastases, chez les patientes sans envahissement ganglionnaire (A. H. S. Lee et al. 2006; de Mascarel et al. 1998) ou avec envahissement ganglionnaire (Song et al. 2011; Ragage et al. 2010).

### **2.1.2) Les facteurs biologiques et moléculaires**

#### **2.1.2.1) Les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone**

Il existe 2 types de récepteurs aux œstrogènes (RE), RE $\alpha$ , codé par le gène ESR1, et RE $\beta$ , codé par le gène ESR2. Le rôle exact de RE $\beta$  est encore controversé, et n'est pas recherché en pratique clinique courante.

RE $\alpha$  est un facteur de transcription, appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires. Le gène de RE $\alpha$  est situé sur le chromosome 6, au locus 6q25.1.

Le récepteur comprend 6 régions distinctes (Kumar et al. 1987) parmi lesquelles :

-un domaine de liaison à l'ADN ou DNA-binding-domain, ou domaine C. Il permet la fixation du récepteur nucléaire à des séquences spécifiques d'ADN dites « estrogen responsive elements » (ERE).

-le domaine E, qui contient le domaine de liaison à l'œstradiol et la fonction d'activation de la transcription AF2.

-le domaine A/B, qui contient une fonction d'activation AF1 indépendante du ligand.

La liaison de l'estradiol à son récepteur au niveau du domaine E entraîne une activation, une modification conformationnelle du RE $\alpha$  ainsi que sa dimérisation. Le complexe estradiol- RE $\alpha$  va se lier aux ERE, dans les régions promotrices des gènes régulés par l'estradiol, et stimuler leur transcription. Il va ainsi réguler la croissance et la différenciation cellulaire.

RE $\alpha$  peut aussi être activé par phosphorylation du domaine AF1, via des voies de signalisation cellulaire tels que la voie PI3K/AKT/MTOR, ou la voie MAPK/ERK. La réponse cellulaire va aussi dépendre de l'expression de co-inhibiteurs et co-activateurs, tels AIB1 (Ali and Coombes 2000).

Le récepteur à la progestérone appartient aussi à la famille des récepteurs nucléaires. Sa transcription est contrôlée par 2 promoteurs distincts, aboutissant à 2 isoformes RPg-A et RPg-B (Kastner et al. 1990). Ils peuvent tous deux se fixer sur les Progesterone Responsive Elements mais ont des fonctions distinctes. (Richer et al. 2002). Le RPg contrôle l'activité transcriptionnelle de RE, avec de fortes implications pronostiques et thérapeutiques (Mohammed et al. 2015).

Un taux élevé de RPg est associé à une meilleure réponse au Tamoxifène, avec augmentation de la survie globale (Ravdin et al. 1992).

Les récepteurs hormonaux sont recherchés par technique IHC sur des coupes histologiques de tumeurs fixées et localisées précisément dans les différents contingents cellulaires. La fiabilité de la technique immunohistochimique dépend d'une technique rigoureuse : les méthodes pré-analytiques et les règles d'interprétation doivent être respectées (MacGrogan et al. 2014). L'évaluation semi quantitative immunohistochimique des RH est plus sensible que celle par qRT-PCR et reste donc préférable (Kraus et al. 2012).

Aux Etats-Unis, selon les recommandations de l'ASCO/ CAP, le seuil de positivité retenu pour les RE et RPg est de 1% (Hammond et al. 2010). En France, le seuil retenu est de 10%. Ce seuil est confirmé par des études montrant que la majorité des tumeurs avec un taux d'expression des RE compris entre 1 et 10% ne présentent pas un profil luminal (Iwamoto et al. 2012), et ont le même pronostic que les tumeurs n'exprimant pas le RE (Yi et al. 2014).

### **2.1.2.2) L'oncogène Her2**

Le gène Her2 est localisé en 17q 12-21, et code pour une glycoprotéine transmembranaire à activité tyrosine-kinase (Stern, Heffernan, and Weinberg 1986).

Cette protéine est un récepteur de croissance cellulaire, intervenant dans la transduction des signaux de prolifération et de différenciation cellulaire.

Le Trastuzumab, anticorps monoclonal humanisé ciblant Her2, a transformé le pronostic de ces patientes, avec les preuves de son efficacité en phase métastatique (Slamon et al. 2001; Marty et al. 2005), puis en adjuvant (Romond et al. 2005; Piccart-Gebhart et al. 2005) et néoadjuvant (Gianni et al. 2010; Untch et al. 2010).

L'activation de l'oncogène Her2 passe le plus souvent par une amplification génique (Seshadri et al. 1989), et se traduit par une surexpression protéique.

Les 2 méthodes utilisées pour déterminer le statut Her2 sont l'immunohistochimie et la FISH (Fluorescent In Situ Hybridization).

La technique immunohistochimique permet la détection et la localisation de la surexpression d'Her2.

Cependant, elle nécessite des techniques pré-analytiques rigoureuses, et répond à des règles d'interprétations précises.

La FISH est la technique de référence. Elle permet l'identification et la localisation microscopique d'aberrations chromosomiques, dans la cellule en métaphase et/ou interphase.

Les recommandations du GEFPICS, suivant celles de l'ASCO/CAP (Wolff et al. 2013) pour l'analyse du statut Her2 ont été mises à jour en 2014 (Penault-Llorca et al. 2014).

### **2.1.2.3) Le marqueur de prolifération Ki67**

Le Ki67 est un marqueur de prolifération nucléaire exprimé lors des différentes phases du cycle cellulaire (Gerdes et al. 1984).

Le Mib1 est un anticorps anti-Ki67 présentant un marquage nucléaire, apprécié de façon quantitative ou semi quantitative, avec des exigences techniques et analytiques essentielles (Dowsett et al. 2011).

L'index Mib1 est un facteur pronostic indépendant des autres facteurs histologiques, aussi bien chez les patientes N- que N+ (de Azambuja et al. 2007).

Il a aussi une valeur prédictive de l'efficacité de la chimiothérapie néoadjuvante, pour les tumeurs RH+ (Criscitiello et al. 2014) et RH- (Tan et al. 2014).

Le seuil de positivité du Ki67 est actuellement controversé, pour plusieurs raisons :

- sa distribution est continue
- les méthodes pré-analytiques influent sur sa positivité
- son interprétation visuelle est difficile. Des méthodes de comptage informatisées ont été développées (Klauschen et al. 2014).
- l'hétérogénéité intra-tumorale peut donner des contingents avec des scores variables.

Dans l'essai de Cheang (Cheang et al. 2009), le seuil déterminé par une comparaison aux analyses génomiques est de 14% chez des tumeurs RH+.

La Conférence de Sant Gallen 2015 laisse la décision aux investigateurs (Coates et al. 2015).

Les recommandations de l'ESMO 2015 mentionnent l'incertitude autour de ce seuil de positivité du Ki67 : une valeur supérieure à 30% est considérée haute, inférieure à 10% basse, mais ces résultats doivent être interprétés à la lumière des valeurs du laboratoire (Senkus et al. 2015).

## **2.2) Premier niveau de segmentation : analyse transcriptomique**

### **2.2.1) Rappel sur les méthodes d'analyse transcriptomique**

Le typage moléculaire permet de mieux comprendre la complexité tumorale. Il peut être réalisé à des niveaux multiples de la régulation de l'expression génique, de l'ADN à la fonction, en passant par l'ARN et la protéine.

Le typage moléculaire classique analyse un seul paramètre moléculaire sélectionné, par exemple au niveau de l'ADN, par technique de Southern Blot, FISH ou séquençage, par Western Blot pour l'ARN. Ces techniques sont limitées par leur échelle, et comportent des biais méthodologiques importants.

Le typage moléculaire à grande échelle permet de dresser un portrait moléculaire de la tumeur, par l'analyse d'un très grand nombre de paramètres, sans sélection a priori, et par l'analyse simultanée d'un grand nombre des tumeurs.

Ces typages ont été développés dans les années 2000, grâce aux progrès de la robotique, de la bio-informatique et de l'analyse d'images.

Le transcriptome est l'ensemble des transcrits d'un échantillon. L'analyse du niveau d'expression de ces milliers de gènes peut se faire par diverses méthodes, basées sur la PCR, le séquençage ou l'hybridation.

La technique des puces à ADN permet l'hybridation d'un set d'ADN, ordonné sur un support solide (cDNA array) avec une sonde complexe, préparée à partir de l'ARN du tissu tumoral. Les signaux émis sont quantifiés et analysés, des techniques de normalisation des puces sont aussi nécessaires.

L'analyse des résultats peut se faire selon 2 approches :

- une approche différentielle : on cherche les gènes exprimés de manière différentielle entre 2 types tumoraux.

- une approche en profils d'expression, supervisée ou non supervisée.

L'approche supervisée permet de caractériser des classes phénotypiques connues a priori, ou de prédire l'appartenance à une classe.

L'approche non supervisée permet, en mesurant les corrélations entre gènes, et entre échantillons, de classer les échantillons selon leurs similarités, et de définir des clusters, non connus a priori.

### **2.2.2) Description initiale de la classification moléculaire des cancers du sein**

En 2000, l'équipe de Perou et Sørli a publié dans Nature le premier article portant sur la Classification moléculaire des cancers du sein (Charles M. Perou et al. 2000).

Ils ont analysé par techniques de microarrays l'expression génique de 42 tissus mammaires (dont 20 ont été échantillonnés 2 fois, avant et après chimiothérapie néo-adjuvante, ou appariés avec leurs métastases ganglionnaires).

Parmi les 8102 gènes analysés, les auteurs en ont identifié 1753 dont l'expression variait de plus de 4 fois entre différents échantillons.

Ces gènes ont été organisés en sous-groupes d'orientation biologique : prolifération, régulation par la voie de l'interféron, par la voie des oestrogènes...

Le point essentiel de l'article est le développement d'un système de classification des tumeurs.

Les auteurs ont sélectionné 496 gènes (le sous-groupe intrinsèque) dont l'expression variait plus entre 2 différentes tumeurs qu'entre 2 échantillons d'une même tumeur.

Le résultat le plus important est la division de l'échantillon en 2 classes : les tumeurs décrites RE+, et RE-.

Les 36 tumeurs RE+ sont caractérisées par une forte expression des gènes exprimés par les cellules mammaires luminales. Elles n'expriment pas Her2.

Les tumeurs RE- se divisent en 3 sous-groupes :

- les 8 tumeurs basal-like expriment les gènes caractéristiques des cellules mammaires basales, ainsi que les cytokératines 5/6 et 17.

- les 7 tumeurs Her2 surexpriment et expriment faiblement les gènes de la voie des oestrogènes

- les 11 tumeurs normal-breast-like se groupent avec les 3 échantillons normaux.

Les auteurs ont ensuite affiné leur description des portraits moléculaires.

En 2001, dans la revue PNAS, ils ont présenté d'autres résultats d'analyse d'expression génique (T. Sørlie et al. 2001). Les sous-groupes « basal-like », « Normal-breast-like » et « ErbB2 » étaient à nouveau retrouvés. Les tumeurs « RE+ » pouvaient être divisées en 3 sous-groupes : « luminal A », présentant la plus forte expression des gènes RE $\alpha$ , GATA3, HNF $\alpha$  ; « luminal B », et « luminal C », exprimant un sous-groupe de gène partagé avec les sous-groupes « Her2 » et « basal-like », très proche du sous-groupe « luminal B ».

Ces différents sous-groupes étaient significativement associés à des pronostics distincts : les sous-groupes « basal-like » et « Her2 » ayant les pires résultats de survie sans rechute et survie globale.

En 2003, à partir des 5 sous-groupes déjà décrits (« luminal A », « luminal B », « normal-breast-like », « basal-like » et « Her2 »), ils ont établi des centroïdes, correspondant à

l'expression moyenne dans chaque sous-groupe de « 500 gènes intrinsèques » (Therese Sørli et al. 2003).

Ces centroïdes leur ont permis de classer en sous-groupes les tumeurs de 2 autres cohortes, celle de Van't Veer, et celle de West, avec un taux d'agrément variant de 79 à 89% pour ces 2 cohortes.

La classification intrinsèque gardait sa valeur pronostique sur ces 2 autres sets.

Plusieurs équipes ont développé des classifications hiérarchisées par analyse en microarrays, retrouvant les 5 sous-groupes précédemment décrits. Ils ont aussi démontré que leurs classifications gardaient leurs valeurs pronostics dans différents sets de tumeurs (Perreard et al. 2006; Z. Hu et al. 2006).

### **2.2.3) Limites de la classification moléculaire**

Premièrement, l'analyse par microarrays est complexe et ne peut s'effectuer que sur du tissu tumoral frais, congelé, limitant son application clinique.

La robustesse de la méthode de classification hiérarchisée est discutable.

En effet, la répartition des différents dendrogrammes varie selon la liste de gènes choisis. Pour les 3 études successives de l'équipe de Sorlie (Charles M. Perou et al. 2000; T. Sørli et al. 2001; Therese Sørli et al. 2003), le set de gènes choisis variaient de 456 à 534 gènes ; Hu utilisant une liste de 1300 gènes « intrinsèques » (Z. Hu et al. 2006).

Cette répartition varie aussi selon le nombre de tumeurs analysées ; l'algorithme accolant systématiquement les 2 tumeurs les plus similaires (Pusztai et al. 2006).

Enfin, le nombre de sous-groupes, c'est à dire le nombre de branches principales du dendrogramme, est soumis à l'interprétation des auteurs. Mackay et al (Mackay et al. 2011) ont montré que l'assignement des différents sous-types, basé sur l'analyse des dendrogrammes, est subjectif, avec une forte variabilité inter-observateur.

Ces études ont inclus principalement des carcinomes canaux infiltrants, rendant difficile leur transposition dans d'autres types histologiques. Weigelt et al, ont montré par une méthode de classification hiérarchique non supervisée, que les différents types

histologiques spécifiques peuvent également avoir un profil transcriptomique distinctif (Weigelt et al. 2008).

Le sous-type « basal-like » est retrouvé dans toutes les études, et semble très robuste.

Cependant, les tumeurs dites « triple-négative » (RE-, Her2-) ne sont pas superposables aux tumeurs « basal-like »: Bertucci et al ont montré que seulement 71% des tumeurs « triple-négatives » sont de sous-type basal, et inversement 79% des tumeurs « basal-like » sont « triple-négatives » (Bertucci et al. 2008).

C'est l'association « RE-, RPg-, Her2 -» et « ck5+ et/ou EGFR+ » qui identifie le mieux les tumeurs « basal-like » avec une spécificité de 100% et une sensibilité de 76% (Nielsen et al. 2004).

Ce sous-type est lui même hétérogène, avec des sous-groupes multiples, comme montré par l'équipe de Lehmann (Lehmann et al. 2011).

La signature d'expression luminale est caractérisée par une expression élevée de ESR1, et d'autres gènes dont la transcription est régulée par ESR1 : GATA3, FOXA1, XBP1. (Z. Hu et al. 2006)

Les tumeurs luminales A et B sont principalement différenciées par leur niveau de prolifération, constituant une variable continue, sans véritable seuil (Loi et al. 2007).

Le degré de prolifération est le processus biologique principal et le principal facteur pronostic des tumeurs luminales, et peut être analysé par les différentes signatures pronostiques (Desmedt et al. 2008).

Le sous-type « Her2 enrichi », n'exprime pas les gènes de la voie des estrogènes. Mais en pratique, 50% des tumeurs surexprimant Her2 expriment les récepteurs hormonaux. Ces tumeurs sont retrouvées dans la catégorie luminale B (Cheang et al. 2009).

Par ailleurs, des tumeurs de tous les sous-type, de « Luminal A » à « Basal-like » peuvent présenter un niveau d'expression RNA de Her2 élevé (de Ronde et al. 2010).

#### **2.2.4) La PAM50**

En 2010, Parker et son équipe ont défini une « liste intrinsèque » de 1906 gènes, établie d'après les classifications hiérarchisées de 4 études antérieures. Ils en ont dérivé une liste de 50 gènes, dont le niveau d'expression peut être analysé par une technique de RT-PCR quantitative, à partir d'ARN extraits de tumeurs fixées au formol et incluses en paraffine (Parker et al. 2009).

Les auteurs ont aussi démontré la valeur pronostique de leur liste de gènes, dans une population de 760 patientes, sans envahissement ganglionnaire, non traitées.

La PAM50 a aussi une valeur pronostique en situation néoadjuvante, les sous-types étant associés à différents taux de RCH (Esserman et al. 2012).

Dans l'étude de Nielsen (Nielsen et al. 2010), le sous-type luminal A était un facteur pronostic indépendant dans une population de patientes RE+, traitées par Tamoxifène adjuvant.

Cette technique présente cependant plusieurs limites.

D'abord des limites techniques, liées à une qualité suboptimale d'ARN. Dans l'étude rétrospective de Cheang (Cheang et al. 2012), la qRT-PCR n'a pas été faisable sur 33% des échantillons.

La contamination des échantillons par du tissu non tumoral (30 à 50% des échantillons) peut aussi fausser la classification (Elloumi et al. 2011).

L'équipe de Haibe-Kains (Haibe-Kains et al. 2012), a testé la « force de prédiction statistiques » de 3 modèles de prédiction, dont la PAM50, sur des sets publiés rassemblant les données de 5715 patientes. Ils ont montré que la force de prédiction de la PAM50 était faible, et que la corrélation avec les autres modèles était moyenne.

Malgré ses limites, la PAM50 est devenue la technique de référence pour le classement intrinsèque des tumeurs du sein.

#### **2.2.5) La classification moléculaire simplifiée**

Du fait de son coût, et de la lourdeur de sa procédure, l'analyse des niveaux d'expression d'ARN ne peut être faite en routine.

De multiples définitions immunohistochimiques simplifiées des différents sous-types intrinsèques ont donc été développées. (Hugh et al. 2009; Blows et al. 2010)

En 2011, lors de la conférence de St Gallen, un panel d'experts internationaux a défini une classification moléculaire simplifiée (Goldhirsch et al. 2011) :

*Tableau 1 : Classification des sous-types moléculaires de cancers du sein selon le consensus international de St Gallen 2011.*

Sous-types	ER	PgR	HER2	Ki67	ou	Grade histologique
<b>Luminal A</b>	+	Et/ou	+	-	Bas (<14%)	1 ou 2
<b>Luminal B HER2 négatif</b>	+	Et/ou	+	-	Haut	3
<b>Luminal B HER2 positif</b>	+	Et/ou	+	+	Haut ou bas	1 à 3
<b>HER2 positif</b>	-	-	+	-	Haut ou bas	1 à 3
<b>Triple négatif</b>	-	-	-	-	Haut ou bas	1 à 3

## 2.2.6) Autres classifications moléculaires

Farmer et al ont publié en 2005 un autre modèle de classification hiérarchique non supervisée, n'individualisant que 3 classes de tumeurs : luminale, basale, et moléculaire apocrine. (Farmer et al. 2005)

Cette classification sera discutée dans le chapitre I.3.

Par ailleurs plusieurs sous-types, en plus du sous-type basal, ont été décrits dans le groupe des cancers RE négatifs.

Le sous-type « Claudin-Low » constitue un groupe de tumeurs RE-, décrites initialement par l'équipe de Herschkowitz (Herschkowitz et al. 2007). Elles sont caractérisées par un haut niveau d'expression de gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse (dont SNAIL1, SNAIL2, Vimentine, TWIST1, TWIST2, ZEB1, ZEB2), et la régulation négative de gènes

impliqués dans l'adhésion cellulaire (E-cadherine, Claudin 3, 4 et 7) (Hennessy et al. 2009). Elles présentent des caractéristiques des cellules souches, avec une expression forte de CD44/CD24 et CD2/CD24. Cliniquement, elles sont généralement RE-/RPg-/HER2-, avec fréquemment une différenciation métaplasique ou médullaire. Elles sont de moins bon pronostic que les tumeurs basal-like, avec un faible taux de réponse complète histologique après chimiothérapie néo-adjuvante (Prat et al. 2010).

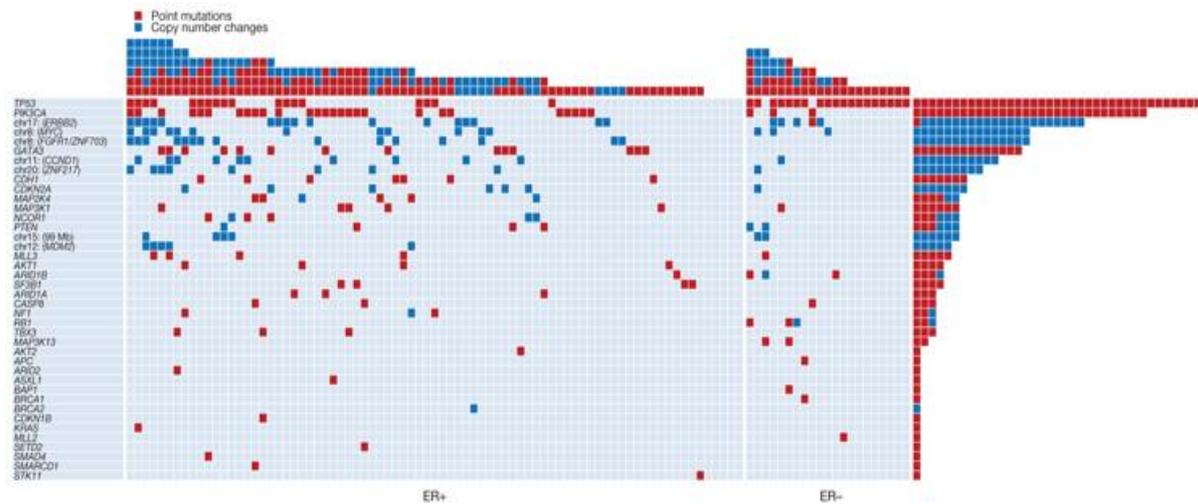
Le sous-type « interféron-rich » a été identifié en 2006 par l'équipe de Hu (Z. Hu et al. 2006). Il est caractérisé par une forte expression des gènes régulés par l'interféron, et notamment du facteur de transcription STAT1. Ce sous-type semble avoir un meilleur pronostic que les tumeurs basal-like (Teschendorff et al. 2007).

### **2.3) Deuxième niveau de segmentation : autres techniques**

Au début des années 2010, un grand nombre d'équipes ont montré la grande hétérogénéité des cancers du sein, par des études génomiques, épigénomiques, transcriptomiques et de protéomiques.

Stephens et al., ont analysé l'exome complet et le nombre de copies de gènes de 100 tumeurs mammaires, à la recherche de mutations « driver », impliquées dans l'oncogenèse de la tumeur et conférant un avantage sélectif aux cellules tumorales. Ils ont ainsi identifiés 9 gènes « drivers » potentiels: AKT2, ARID1B, CASP8, CDKN1B, MAP3K1, MAP3K13, NCOR1, SMARCD1, et TBX3. Parmi les 100 tumeurs, ils ont trouvé des mutations « drivers » dans plus de 40 gènes, et 73 différentes combinaisons de mutations d'oncogènes (Stephens et al. 2012).

**Figure 1** : Les mutations drivers dans le cancer du sein (Stephens et al. 2012)



Banerji et al ont séquencé l'exome complet de 103 tumeurs, et le génome complet de 22 tumeurs, appariées à des tissus sains.

Ils ont confirmé certaines mutations connues (PIK3CA, TP53, AKT1, GATA3, MAP3K1), et ont trouvé des mutations du gène du facteur de transcription CBFβ et des délétions de son partenaire RUNX1. Ils ont aussi identifié des fusions MAGI3-AKT3 dans des tumeurs triple négatives, aboutissant à une activation constitutive d'AKT (Banerji et al. 2012).

Shah et al ont analysé 104 tumeurs triple négatives primaires en combinant analyse du nombre de copies, séquençage de l'exome complet, du génome complet, et séquençage de l'ARN. Ils ont montré que le nombre de mutations somatiques varie beaucoup d'une tumeur à l'autre et par séquençage de l'ARN, qu'environ 36% seulement des mutations sont exprimées. Les mutations clonales de P53, PIK3CA et PTEN surviennent généralement précocement dans l'évolution tumorale, alors que les mutations des gènes impliqués dans la motilité cellulaire ou le cytosquelette sont tardives (Shah et al. 2012).

L'équipe de Curtis a étudié 997 tumeurs de la cohorte METABRIC (Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium) par analyse du nombre de copies d'ADN (génome complet) et du profil transcriptionnel, et a réalisé un suivi clinique à long terme.

Des aberrations soit constitutionnelles : variation du nombre de copies ou polymorphismes ; soit somatiques était retrouvées pour 40% des gènes. En identifiant les

gènes dont l'expression était modulée par ces aberrations, ils ont repéré de potentiels gènes impliqués dans la tumorigenèse (notamment PPP2R2A, MTAP, MAP2K4).

Ils ont identifié 10 sous-groupes, avec des pronostics distincts, qu'ils ont ensuite validés sur une autre cohorte de 995 cas, offrant une nouvelle stratification moléculaire (Curtis et al. 2012).

Une méta-analyse de 8 études de séquençage génomique a identifié dans 25 tumeurs des mutations activatrices du gène Her2, sans amplification de Her2, offrant de nouvelles opportunités thérapeutiques pour ces tumeurs. (Bose et al. 2013)

The Cancer Genome Atlas est une collaboration mondiale de plusieurs organismes de recherche, pour établir des analyses multidimensionnelles, exhaustives de la génomique des tumeurs, pour 33 types tumoraux (Cancer Genome Atlas Network 2012). Ils ont analysé environ 450 tumeurs du sein primaires, selon plusieurs méthodes d'analyse : analyse du nombre de copies d'ADN, de la méthylation de l'ADN, de puces protéiques en phase reverse, et séquençage de l'exome, des ARN messages et des microARN.

Ils ont intégré les informations provenant de ces différentes plates-formes, et ont retrouvé 4 sous-types, corrélés aux sous-types de la classification intrinsèque.

Par séquençage de l'exome, ils ont identifié 35 gènes mutés significatifs, parfois mutuellement exclusifs, et qui sont aussi retrouvés en séquençage des ARNm, et corrélés au phénotype clinique. L'analyse de la méthylation de l'ADN leur permet d'identifier 5 groupes, dont 2 coïncident avec les sous-types luminaux B, et basal-like.

L'analyse de puces protéiques a retrouvé 2 groupes, l'un avec une forte expression protéique de RE, RPg, RA, BCL2, GATA3 et INPP4B recoupant le sous-type luminal A, et l'autre avec une expression protéique beaucoup plus hétérogène. Ces 2 groupes ne diffèrent pas significativement pour les autres analyses réalisées et sont aussi influencés par le microenvironnement tumoral.

Le tableau ci-dessous résume les principaux résultats par sous-types.

**Tableau 2 : Principaux résultats par sous-types des travaux du TCGA**

Subtype	Luminal A	Luminal B	Basal-like	HER2E
ER <sup>+</sup> /HER2 <sup>-</sup> (%)	87	82	10	20
HER2 <sup>+</sup> (%)	7	15	2	68
TNBCs (%)	2	1	80	9
TP53 pathway	TP53 mut (12%); gain of MDM2 (14%)	TP53 mut (32%); gain of MDM2 (31%)	TP53 mut (84%); gain of MDM2 (14%)	TP53 mut (75%); gain of MDM2 (30%)
PIK3CA/PTEN pathway	PIK3CA mut (49%); PTEN mut/loss (13%); INPP4B loss (9%)	PIK3CA mut (32%); PTEN mut/loss (24%); INPP4B loss (16%)	PIK3CA mut (7%); PTEN mut/loss (35%); INPP4B loss (30%)	PIK3CA mut (42%); PTEN mut/loss (19%); INPP4B loss (30%)
RB1 pathway	Cyclin D1 amp (29%); CDK4 gain (14%); low expression of CDKN2C; high expression of RB1	Cyclin D1 amp (58%); CDK4 gain (25%)	RB1 mut/loss (20%); cyclin E1 amp (9%); high expression of CDKN2A; low expression of RB1	Cyclin D1 amp (38%); CDK4 gain (24%)
mRNA expression	High ER cluster; low proliferation	Lower ER cluster; high proliferation	Basal signature; high proliferation	HER2 amplicon signature; high proliferation
Copy number	Most diploid; many with quiet genomes; 1q, 8q, 8p11 gain; 8p, 16q loss; 11q13.3 amp (24%)	Most aneuploid; many with focal amp; 1q, 8q, 8p11 gain; 8p, 16q loss; 11q13.3 amp (51%); 8p11.23 amp (28%)	Most aneuploid; high genomic instability; 1q, 10p gain; 8p, 5q loss; MYC focal gain (40%)	Most aneuploid; high genomic instability; 1q, 8q gain; 8p loss; 17q12 focal ERBB2 amp (71%)
DNA mutations	PIK3CA (49%); TP53 (12%); GATA3 (14%); MAP3K1 (14%)	TP53 (32%); PIK3CA (32%); MAP3K1 (5%)	TP53 (84%); PIK3CA (7%)	TP53 (75%); PIK3CA (42%); PIK3R1 (8%)
DNA methylation	-	Hypermethylated phenotype for subset	Hypomethylated	-
Protein expression	High oestrogen signalling; high MYB; RPPA reactive subtypes	Less oestrogen signalling; high FOXM1 and MYC; RPPA reactive subtypes	High expression of DNA repair proteins, PTEN and INPP4B loss signature (pAKT)	High protein and phospho-protein expression of EGFR and HER2

Percentages are based on 466 tumour overlap list. Amp, amplification; mut, mutation.

Plus récemment, de nouvelles études ont pointé l'importance de l'épigénomique dans la progression tumorale, et éclairé les interférences complexes entre le génome et l'épigénome.

Des défauts de régulation de la chromatine, incluant notamment des sous-unités du complexe SWI/SNF, ont été retrouvés dans des tumeurs mammaires (Kadoch et al. 2013).

Le gène JARID1B, impliqué dans la méthylation des histones, est fréquemment amplifié ou muté dans les tumeurs lumineales, et associé à un mauvais pronostic (Yamamoto et al. 2014).

## **3. Principes généraux des Traitements du cancer du sein**

### **3.1) Traitement au stade précoce**

#### **3.1.1) La chirurgie**

Le diagnostic du cancer du sein est évoqué sur des anomalies de la mammographie (microcalcifications, masse non liquidienne, distorsion architecturale ) ou devant une masse d'un sein, à l'échographie ou palpable cliniquement.

Il est confirmé par prélèvement histologique : micro ou macrobiopsies, avec guidage échographique ou radiologique.

Un bilan d'extension à distance est indiqué avant la chirurgie pour les cancers T3, T4 et T2 triple négatifs ou Her2+ ainsi que pour les tumeurs N+, et avant toute mastectomie.

Il comporte un Scanner thoraco-abdomino-pelvien, une scintigraphie osseuse et un bilan biologique avec CA 15.3 (l'association radiographie thoracique-échographie hépatique-scintigraphie osseuse est peu utilisée). Un PET-TDM peut aussi être proposé.

(ANNEXESEININFILT12 | Institut National Du Cancer" 2016)

Le traitement de 1ère intention, quand il est réalisable (tumeur unique, tumeurs multiples mais proches) est un traitement conservateur reposant sur la chirurgie conservatrice du sein, associée à la radiothérapie.

Différentes techniques (tumorectomie, pyramidectomie, quadrantectomie) permettent l'exérèse des lésions, y compris les lésions infra-cliniques après un repérage pré-opératoire. Depuis 2014, les marges sont considérées comme suffisantes en cas « d'absence d'encre sur les berges tumorales glandulaires » (Houssami and Morrow 2014). En cas de marges insuffisantes, la reprise chirurgicale peut se faire par réexcision ou mastectomie totale. A l'exérèse tumorale doit être ajouté un geste axillaire, pour définir le statut ganglionnaire. La technique du ganglion sentinelle (exérèse des 1er relais ganglionnaires de l'aisselle, après repérage par méthode colorimétrique ou isotopique), permet d'éviter le curage axillaire de l'aisselle, plus à risque de complications.

Il est indiqué pour les tumeurs de stade T1 ou T2 et dans certains cas de tumeurs multifocales. Il est possible après une chimiothérapie néo-adjuvante, seulement en

l'absence d'atteinte ganglionnaire clinique. L'indication d'un curage axillaire en cas de ganglion sentinelle positif, pour des petites tumeurs traitées par tumorectomie et radiothérapie est remise en cause, et de nombreux essais testent cette stratégie (Dengel et al. 2014).

### **3.1.2) La radiothérapie**

La radiothérapie, après chirurgie conservatrice du sein ou mastectomie, diminue le risque de rechute locale, et améliore la survie globale, comme montré dans les méta analyses de l'EBCTCG (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group). Ces bénéfices sont retrouvés après mastectomie pour les tumeurs avec envahissement ganglionnaire, (EBCTCG (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group) et al. 2014), et après chirurgie conservatrice du sein (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Darby, et al. 2011).

Le schéma international historique d'irradiation après chirurgie conservatrice délivre 50 Gy en 25 fractions, étalées sur 5 semaines.

Différents protocoles d'irradiation hypofractionnée ont été développés ; protocole Whelan (Whelan et al. 2010), protocole START B (START Trialists' Group et al. 2008) ; afin de diminuer le temps de traitement pour le même contrôle local et une toxicité acceptable. L'irradiation hypofractionnée peut être proposée chez les patientes sans envahissement ganglionnaire, et sans indication à une chimiothérapie (Coates et al. 2015).

Différentes techniques d'irradiation partielle du sein sont en cours de développement, et peuvent être proposées dans le cadre d'essais cliniques : irradiation partielle per-opératoire, par curiethérapie, par radiothérapie externe conformationnelle... Les résultats définitifs des différents essais sont en attente.

La balance bénéfice/risque de l'irradiation de la chaîne mammaire interne reste discutée du fait de sa cardiotoxicité potentielle. Ainsi, son irradiation est à discuter, en premier lieu en fonction de l'atteinte ganglionnaire axillaire et, en son absence, en fonction des autres facteurs de risque (taille tumorale, topographie interne de la tumeur, présence d'embolies vasculaires et âge jeune de la patiente).

### **3.1.3) La chimiothérapie**

Les méta-analyses de l'EBTCG, réactualisées en 2012, ont montré qu'en moyenne, une polychimiothérapie adjuvante, reposant sur une association Anthracyclines + Taxanes, ou Anthracyclines à fortes doses, permet de réduire la mortalité par cancer du sein à 10 ans d'un tiers (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) et al. 2012).

Les sociétés savantes et conférences d'experts ont affiné les indications de chimiothérapies selon les marqueurs immunohistochimiques, et plus récemment, selon la classification moléculaire simplifiée (Goldhirsch et al. 2013; Coates et al. 2015).

Ainsi, lors de la Conférence de St Gallen 2015, de nouveaux avis d'experts ont été proposés, avec un consensus plus ou moins fort (Coates et al. 2015).

Pour les tumeurs de type luminales, les indications de chimiothérapies sont : le grade 3, un Ki67 élevé, un faible marquage hormonal, des embolies vasculaires extensifs, l'envahissement de 4 ganglions axillaires ou plus.

Pour les tumeurs luminales A, moins sensibles à la chimiothérapie, la taille tumorale, les embolies vasculaires, ou l'envahissement de moins de 4 ganglions ne sont pas des critères suffisants pour justifier une chimiothérapie adjuvante. Elle est quasi unanimement recommandée en cas d'envahissement de plus de 4 ganglions. L'intérêt d'une association taxane + anthracyclines, comparée aux anciens schémas comprenant une anthracycline (type AC ou CMF) est moins marqué.

Pour les tumeurs luminales B, le Panel d'experts considère que la chimiothérapie adjuvante peut être évitée dans certains cas, en particulier en cas de risque faible selon les nouveaux tests pronostics type Oncotype DX, MammaPrint, Endopredict (Pas de consensus en cas de risque intermédiaire). Cette chimiothérapie doit comporter préférentiellement une association anthracycline + taxane, et une courte majorité du Panel considère qu'il existe un sous-groupe de tumeurs luminales B pouvant bénéficier d'une chimiothérapie dose-dense.

Pour les tumeurs triple négatives, une association anthracycline + taxane est recommandée. Chez les patientes présentant une mutation BRCA, une association avec platine peut être considérée, même si le bénéfice n'a pu être prouvé par les différents essais randomisés.

Pour les tumeurs Her2+, le Panel recommande à la quasi unanimité une chimiothérapie associant anthracycline + taxane. Une thérapie anti-Her2, actuellement du trastuzumab seul, y est associée, débutant avec les taxanes.

Pour les tumeurs de stade 1, inférieure à 1cm, une large majorité du Panel accepte une combinaison Taxanes+ Trastuzumab, sans anthracyclines (Tolaney et al. 2015).

La chimiothérapie néoadjuvante a pour objectif premier l'augmentation des chances de conservation mammaire.

Les indications actuelles sont :

- l'amélioration des chances de conservation, ou de moindres séquelles esthétiques, pour une tumeur peu compatible avec un traitement conservateur suffisant, et présentant dans tous les cas une indication de chimiothérapie.

- tumeurs localement avancées inopérables d'emblée ou inflammatoires.

L'obtention d'une réponse pathologique complète est corrélée à une meilleure survie, en particulier pour les sous-types les plus agressifs (Mieog, van der Hage, and van de Velde 2007; Cortazar et al. 2014). L'amélioration du taux de RCH a pu déjà servir de critère d'enregistrement de nouvelles thérapies, notamment par la Food and Drug Administration, malgré certaines réserves. (Prowell and Pazdur 2012)

Cependant, l'amélioration par un traitement du taux de réponse pathologique complète n'est que faiblement corrélé à l'amélioration de la survie sans maladie, et de la survie globale. Le taux de réponse pathologique complète est donc un marqueur de substitution imparfait du bénéfice clinique (Cortazar et al. 2014).

Les protocoles de chimiothérapie néoadjuvante reprennent les molécules utilisées en adjuvant.

Le Panel ne recommande pas de chimiothérapie néoadjuvante pour les tumeurs lumineales

A. Les indications sont plus larges pour les tumeurs lumineales B.

Pour les tumeurs Her2+, une association comportant Taxane et un double blocage par Trastuzumab + Pertuzumab constitue un régime acceptable. (Gianni et al. 2016)

Pour les tumeurs triple négatives, la chimiothérapie néoadjuvante doit comporter une association anthracycline + taxane.

### 3.1.4) L'hormonothérapie

Les méta-analyses de l'EBCTCG ont montré qu'une hormonothérapie adjuvante par Tamoxifène, comparée au placebo, permet, à 15 ans, une réduction relative du risque de rechute de 39%, et une réduction relative du risque de décès de 30%. Il existe un effet « carry-over », avec un bénéfice de l'hormonothérapie prolongé, plus important à 10 ans qu'à 5 ans.

Ce bénéfice est indépendant de l'ajout d'une chimiothérapie, de l'âge, du statut ganglionnaire, de la différenciation, de la taille tumorale (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), Davies, et al. 2011).

Le Tamoxifène est un modulateur sélectif du récepteur aux estrogènes, qui rentre en compétition avec l'estradiol pour sa liaison à RE $\alpha$ .

Les inhibiteurs de l'aromatase bloquent la conversion des androgènes en estradiol au niveau des sites d'activité de l'aromatase (surrénale, tissu adipeux, sein, tissu tumoral). Ils sont contre-indiqués chez les patientes non ménopausées. Ils peuvent toutefois être prescrits après castration chirurgicale, ou chimique par des analogues de la LH-RH.

En raison de leur tolérance moyenne, la compliance des patientes à ces traitements est souvent médiocre (Hershman et al. 2010).

Différents essais ont évalué l'intérêt des anti-aromatases comparé au Tamoxifène chez les patientes ménopausées (Regan et al. 2011; Cuzick et al. 2010), montrant une discrète infériorité du Tamoxifène versus un schéma par Anti-aromatases seul, ou séquentiel.

D'autres essais ont évalué la poursuite du Tamoxifène (Davies et al. 2013), ou des anti-aromatases (Goss et al. 2016) jusqu'à 10ans, montrant un bénéfice clinique modéré, au prix de lourds effets secondaires, et avec un doute majeur sur la compliance.

Chez les femmes pré-ménopausées, les études SOFT et TEXT ont testé l'intérêt d'une suppression ovarienne en association au Tamoxifène, et aux anti-aromatases. Ces études sont négatives, mais positives dans les sous-groupes de patientes les plus jeunes, avec les tumeurs les plus agressives (Francis et al. 2015; Pagani et al. 2014).

L'hormonothérapie néoadjuvante est une option possible chez les femmes ménopausées, avec une tumeur hormono-sensible, en particulier les tumeurs lumineuses A non opérables d'emblée. Cette hormonothérapie peut être proposée pour 4 à 8 mois, ou jusqu'à la réponse maximale.

Les indications des différents traitements, selon la Conférence de St Gallen 2015, peuvent être résumées ainsi

**Tableau 3 : Recommandations pour le traitement adjuvant. (Coates et al. 2015)**

Clinical grouping	Type of therapy	Notes on therapy
Triple-negative	Cytotoxic chemotherapy including anthracycline and taxane	Platinum-based chemotherapy may be considered in patients with known BRCA mutation, see text
ER negative and HER2-positive	No systemic therapy	
T1a node negative	Chemotherapy plus trastuzumab	Consider paclitaxel plus 12 months trastuzumab without anthracycline
T1 b,c node negative		
Higher T or N stage	Anthracycline → taxane with concurrent trastuzumab continued to 12 months	Patients unsuitable for anthracycline may be treated with TCH regimen, though cardiac contraindications to anthracycline may also argue against trastuzumab [115]
ER positive and HER2-positive	As above plus endocrine therapy appropriate to menopausal status as below	
ER positive and HER2-negative (luminal disease)		
Without markers of less endocrine responsiveness (luminal A-like)	Endocrine therapy alone according to menopausal status	See Table 2. Consider chemotherapy if four or more nodes involved
Premenopausal low risk	Tamoxifen 5 years	
Premenopausal other	Tamoxifen 5–10 years or OFS plus tamoxifen or OFS plus exemestane	See criteria in papers [3, 4, 116]
Postmenopausal low risk	Tamoxifen 5 years	
Postmenopausal other	AI preferably up front; extended adjuvant therapy (see text)	No evidence on the safety or efficacy of more than 5 years of an AI
With markers suggesting lesser endocrine responsiveness (luminal B-like)	Endocrine therapy as above plus adjuvant cytotoxic chemotherapy in many cases	See Table 2
Factors supporting omission of cytotoxic chemotherapy despite 'luminal B-like' phenotype		'good' result of multiparameter molecular test if available

### 3.2) Traitements au stade avancé

Les traitements des cancers du sein métastatiques doivent prendre en compte des facteurs liés :

-à la maladie: le statut hormonal et Her2, les thérapies antérieures et leurs toxicités, l'intervalle sans maladie, la masse tumorale

-à la patiente : état général, co-morbidités, statut ménopausique, facteurs socio-économiques et psychologiques, préférences...

Les traitements sont moins standardisés qu'au stade précoce, et les patientes doivent être incluses au maximum dans les essais cliniques.

La 2<sup>nd</sup> conférence de consensus de l'ESMO, parue en 2014, a proposé les recommandations suivantes pour la prise en charge dans cancers métastatiques (Cardoso et al. 2014).

### **3.2.1) Tumeurs lumineales**

En première ligne, l'hormonothérapie est toujours à privilégier, même en cas de métastases viscérales, sauf si une réponse rapide est nécessaire, ou pour une maladie devenue hormono-résistante.

Pour les femmes pré-ménopausées, une suppression de la fonction ovarienne associée à du Tamoxifène, ou un inhibiteur de l'aromatase est possible.

Pour les femmes ménopausées, du Tamoxifène, une anti-aromatase ou du Fulvestrant (inhibiteur sélectif du RE) peuvent être proposés en 1<sup>e</sup> ligne.

En cas de résistance aux inhibiteurs de l'aromatase, une association Exemestane + Everolimus (inhibiteur de mTOR), ou Fulvestrant + Palbociclib (inhibiteur de CDK4/6), mieux tolérée, peut restaurer l'hormono-sensibilité.

Une hormonothérapie en maintenance après une chimiothérapie peut être discutée, bien que cette approche n'ait pas été prouvée dans des essais randomisés.

L'association concomitante chimiothérapie + hormonothérapie ne peut s'envisager que dans des essais cliniques.

### **3.2.2) Tumeurs Her2+**

Les thérapies anti-Her2 doivent être prescrites le plus tôt possible dans la prise en charge, et poursuivies au delà de la 1<sup>e</sup> ligne, la durée optimale de traitement n'étant pas connue actuellement.

En 1<sup>e</sup> ligne, l'association chimiothérapie + Trastuzumab + Pertuzumab (Anticorps bloquant la dimérisation de Her2) est l'option privilégiée. Il n'existe pas de données incitant à poursuivre le double blocage au delà de la 1<sup>e</sup> ligne.

Après une 1<sup>e</sup> ligne contenant du trastuzumab, le TDM-1 (Anticorps conjugué trastuzumab-emtansine) est supérieur aux autres thérapies anti-Her2.

Pour les lignes suivantes, une association de 2 traitements anti-Her2 (Lapatinib+ Trastuzumab) ou d'une chimiothérapie + thérapie anti Her2 peut être proposée, sans qu'il existe de données sur une séquence optimale. L'inclusion dans des essais thérapeutiques doit être privilégiée.

Chez les patientes ayant une tumeur RE+ /Her2+, l'association hormonothérapie+ thérapie antiHer2 a montré une augmentation de la survie sans progression, sans augmentation de la survie globale, en comparaison à l'hormonothérapie seule, et peut donc être évoquée.

### **3.2.3) Tumeurs triple négatives**

Le traitement repose sur des monochimiothérapies successives. Les combinaisons doivent être réservées aux progressions cliniques rapides, ou aux sites métastatiques entraînant un risque vital.

En 1<sup>e</sup> ligne, chez les patientes naïves de toute chimiothérapie, une Anthracycline ou une Taxane est indiquée. D'autres options, telles la Capecitabine ou la Vinorelbine, peuvent être discutées, en particulier si les patientes veulent éviter absolument l'alopecie.

Chez des patientes déjà pré-traitées par Anthracyclines et Taxanes, en phase adjuvante ou métastatique, la Capecitabine, la Vinorelbine ou l'Eribuline peuvent être proposées. Les taxanes peuvent être réutilisées, en particulier lorsqu'elles ont permis une survie sans progression supérieure à 1 an. Les options supplémentaires sont la Gemcitabine, les sels de platine, les anthracyclines liposomales.

La durée de chaque régime doit être adaptée à chaque patiente. De manière générale (sauf pour les anthracyclines), les traitements sont poursuivis jusqu'à progression ou toxicité inacceptable.

Le bevacizumab (anti-angiogénique), en combinaison à la chimiothérapie en 1<sup>e</sup> ou 2<sup>e</sup> ligne, offre un bénéfice modéré en survie sans progression, et non en survie globale. En l'absence de biomarqueurs prédisant son efficacité, il doit être considéré comme une option, dans certains cas sélectionnés. Chez les patientes présentant une mutation de BRCA, les sels de platine semblent apporter un réel bénéfice.

## 4) Identification des tumeurs moléculaires apocrines

### 4.1) Identification principes

En 2005, le laboratoire du Pr Iggo, à Lausanne, a identifié un nouveau sous-type de tumeurs du sein, appelées « tumeurs moléculaires apocrines » (Farmer et al. 2005). Comme mentionné dans l'introduction, ce sous-type est caractérisé par l'expression du récepteur aux androgènes (RA), l'absence d'expression du récepteur aux estrogènes RE $\alpha$ , et l'expression paradoxale de gènes habituellement exprimés par les tumeurs lumineales (Farmer et al. 2005; Doane et al. 2006; Lehmann et al. 2011). Ces tumeurs ont été nommées moléculaires apocrines car elles présentent les caractéristiques histologiques d'une différenciation apocrine, et que leur profil d'expression montre une activation de la voie des androgènes.

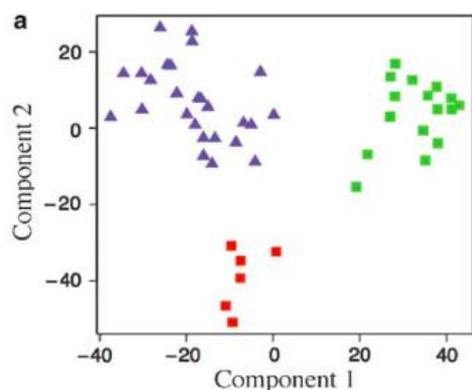
Les ARN de biopsies de 49 carcinomes mammaires T2-T4 ont été extraits puis hybridés sur une puce ARN.

Par « analyse en composante principale » (PCA, méthode d'analyse de données permettant de transformer des variables liées entre elles en nouvelles variables « décorréélées » les unes des autres) de l'ensemble des gènes exprimés, ils ont d'abord montré que ces tumeurs se répartissaient en 3 groupes (cf figure 2).

Pour comprendre cette répartition, les profils d'expression génique ont été analysés par classification hiérarchique des 3198 gènes les plus variables (cf figure 3). Cette analyse a montré que le 1<sup>er</sup> axe de la PCA sépare 16 tumeurs basales et 27 tumeurs lumineales, comme montré dans les précédentes classifications. Les clusters de gènes de prolifération ou d'infiltration par les cellules stromales ou les lymphocytes permettaient de subdiviser les groupes basaux et luminaux, mais n'expliquaient pas l'existence du 3<sup>e</sup> groupe. Les tumeurs Her2 selon la classification intrinsèque se répartissaient de façon égale dans le groupe basal et le groupe luminal.

Finalement, l'analyse des gènes les plus exprimés dans le 3<sup>e</sup> groupe, contenant 6 tumeurs, a montré que les voies de signalisation dépendantes des androgènes y étaient activées.

Figure 2 : Analyse en composante principale des profils d'expression. (Farmer et al. 2005)

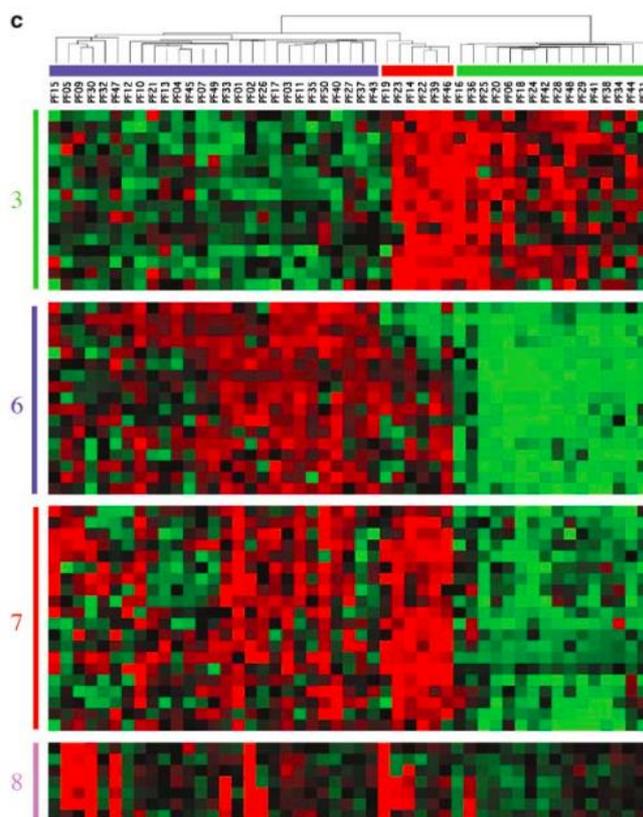


Les 2 axes principaux de la PCA sont représentés.

Les 3 groupes définis par PCA sont colorés en bleu, rouge, vert.

Les tumeurs représentées par un triangle sont ER+ en IHC, par un carré, ER-

Figure 3 : Classification hiérarchique : clusters d'intérêt



Les barres du dendrogramme utilisent le même code couleur que dans la figure 2.

Les clusters de gènes représentés sont :

3 : gènes apocrine/basal et d'hypoxie

6 : gènes luminaux

7 gènes apocrines-luminaux

8 : gènes signalés par Her2.

Ces 6 tumeurs du 3<sup>e</sup> groupe présentait toutes des traits apocrines (cytoplasme éosinophile abondant, nucléole proéminent), et ont donc été nommées « moléculaires apocrines ».

Cette répartition en 3 groupes, basal, luminal et apocrine moléculaire, a ensuite été validée sur 4 autres set de tumeurs.

L'année suivante, l'équipe de Doane du Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, a publié une étude confirmant ces résultats (Doane et al. 2006).

Ils ont analysé le transcriptome de 99 tumeurs. Parmi les 41 tumeurs RE-/RPg- en IHC, ils ont identifié 10 tumeurs dont le profil d'expression était proche des tumeurs RE+ /RPg+ (dénommées RE- classe A), les 31 autres ayant un profil basal (RE- classe B).

Les 138 gènes différentiellement exprimés entre les tumeurs RE- classe A et RE- classe B étaient connus pour être impliqués dans les programmes transcriptionnels des tumeurs RE+, et beaucoup contenaient des séquences ERE « estrogène responsive elements » ou ARE « androgène responsive element ». Le transcrit Her2 était plus souvent exprimé dans les tumeurs RE- classe A.

Les auteurs ont ensuite montré que la lignée cellulaire MDA-MB-453 avait un profil d'expression relativement proche des tumeurs RE- classe A.

La prolifération de cette lignée était augmentée après incubation avec un puissant agoniste androgène (R-1881), et cette prolifération était bloquée par l'ajout de flutamide. Elle était indépendante de l'action des estrogènes.

50 gènes dont l'expression était induite par l'incubation avec le R-1881 étaient connus comme des gènes de réponse aux estrogènes. Le programme transcriptionnel induit par les androgènes dans ces tumeurs recouvrait donc celui induit par les estrogènes dans les tumeurs lumineales.

En 2009, une méta-analyse des études de Farmer et Doane a été réalisée (Sanga et al. 2009).

Après normalisation des données des 2 équipes, par classification hiérarchique des transcriptomes, comparaison des signatures géniques et analyse en PCA, ils ont confirmé l'existence du sous-type moléculaire apocrine, et « l'équivalence moléculaire » des phénotypes décrits par les 2 laboratoires. Ils ont confirmé l'importance de la voie des androgènes dans ce sous-type.

## 4.2) Autres descriptions des tumeurs moléculaires apocrines

En 2011, l'équipe de Lehmann a analysé 387 tumeurs du sein triple négatives. Ils ont identifié par profils d'expression 6 sous-types : 2 « basal-like » (BL1 et BL2), un « immunomodulatory », un « mesenchymal » et un « mesenchymal stem-like », et un « luminal androgen receptor » (LAR). Le sous type LAR représente 10 à 15% des tumeurs triples négatives, et son profil d'expression est enrichi en gènes impliqués dans la synthèse des stéroïdes, le métabolisme des porphyrines, et le métabolisme des estrogènes/androgènes.

L'ARN messager de RA est 9 fois plus exprimé dans ces tumeurs que dans les autres sous-types.

Ces tumeurs surexpriment aussi des cibles et des coactivateurs de RA (DHCR24, ALCAM, FASN, FKBP5, APOD, PIP, SPDEF, and CLDN8).

Les 6 tumeurs moléculaires apocrines identifiées par Farmer se classaient avec les tumeurs LAR.

Les auteurs ont corrélé chacun des 386 profils d'expression de ces tumeurs aux centroïdes des 5 sous-types moléculaires de la classification intrinsèque. A la différence des autres sous-types, les tumeurs LAR se classent toutes avec les tumeurs lumineales, confirmant l'origine lumineale de ces tumeurs.

Les lignées cellulaires identifiées comme du sous-type LAR sont sensibles au bicalutamide (Lehmann et al. 2011).

En 2012, un groupe d'investigateurs Français a proposée une version affinée de la classification intrinsèque des tumeurs du sein (Guedj et al. 2012).

Ils ont classé, par 3 méthodes de classification non supervisée, le transcriptome de 537 tumeurs.

Ils ont retrouvé 6 sous-groupes, distribués selon 3 facteurs en Analyse en Composante Principale : RA, RE, et le cycle cellulaire.

Parmi ces 6 sous-groupes, ils ont identifié 4 sous-groupes RE+/RPg+/RA+ : deux peu prolifératifs, Normal-like et Luminal A, et deux très prolifératifs, nommés Luminal B et Luminal C. Ils ont retrouvé un sous groupe RE-/RPg-/RA- nommé basal-like, et un sous-groupe RE-/RPg-/RA+, nommé moléculaire apocrine. Les tumeurs Her2+ se répartissaient dans les sous-groupes Luminal C et moléculaire apocrines

En CGH-array, une amplification de la région 17q12 (comprenant le gène Her2), était retrouvé dans 72% des tumeurs moléculaires apocrines.

A partir de profil d'expression de cellules mammaires normales, les auteurs ont inféré une signature permettant d'identifier les cellules d'origine de ces tumeurs : les cellules souches mammaires, les cellules progénitrices luminales, les cellules luminales matures, et les cellules stromales. Ils ont ainsi montré que les tumeurs moléculaires apocrines étaient issues des cellules progénitrices luminales.

Enfin, ils ont mis en évidence que ces différents sous-groupes avaient une valeur pronostique.

### **4.3) Différences avec le carcinome apocrine du sein**

Le carcinome apocrine du sein est un sous-type histologique rare, environ 1% de l'ensemble des carcinomes mammaires.

Le diagnostic est posé sur des critères histologiques : tumeur du sein composé de plus de 90% de populations tumorales présentant une différenciation apocrine. La différenciation apocrine est caractérisée par la présence de cytoplasme éosinophile granuleux, et de noyaux centraux nucléolés.

La différenciation apocrine existe sur tout un spectre de lésions du sein, allant de la métaplasie apocrine bénigne, à l'hyperplasie apocrine complexe, au carcinome apocrine in situ, puis carcinome apocrine infiltrant. Le récepteur aux androgènes est surexprimé dans toutes ces lésions (Gatalica 1997).

Il peut survenir dans un contexte de mutation constitutionnelle de PTEN (Banneau et al. 2010).

Il n'existe pas de définition immunohistochimique standardisée des carcinomes apocrines. Certains auteurs ont proposé une signature RE-/RPg-/RA+, validée sur de petites séries de carcinomes apocrines (Mills et al. 2016).

Sur une série de 37 carcinomes apocrines colligés par Vranic et al., 27 seulement (73%) étaient RE-/RPg-/RA+ en immunohistochimie. (Vranic et al. 2015) Dans une autres série de 55 carcinomes apocrines, seulement 38 étaient RE-/RPg-/RA+ (Vranic et al. 2010).

Dans la série princeps de Farmer, 5/6 tumeurs moléculaires apocrines avaient un phénotype de carcinome apocrine, ainsi que 4/4 des tumeurs moléculaires apocrines identifiées dans le set de Sorlie (Farmer et al. 2005).

Cependant, dans la série de Lehmann-Che et al., (où les 58 tumeurs moléculaires apocrines étaient définies par une signature en qRT-PCR établie sur 8 gènes), seules 4 tumeurs (7%) présentaient une différenciation apocrine (Lehmann-Che et al. 2013).

Ainsi, les carcinome moléculaires apocrines, définis par analyse transcriptomique, ne peuvent pas être assimilés aux carcinomes invasifs apocrines, de description histologique

#### **4.4) Oncogenèse des tumeurs moléculaires apocrines**

Les cellules mammaires se développent à partir de cellules souches indifférenciées, évoluant vers divers types cellulaires bien différenciés.

Plusieurs équipes ont émis l'hypothèse que les différents sous-types tumoraux définis par profils d'expression sont issus de populations de cellules souches stoppées à différents stades de développement, ou de transformations directes de populations cellulaires matures.

L'équipe de Lim et al. a mis en évidence par des méthodes de cytométrie en flux, 3 types de populations de cellules mammaires normales, et a comparé leurs signatures transcriptomiques à celles des différents sous-types tumoraux connus. (Lim et al. 2009)

Les cellules luminales fabriquent le lait maternel, et leur vie est influencée par les taux d'estradiol et progestérone circulants, dont elles expriment les récepteurs. Lim et al ont établi que leur signature transcriptomique est très corrélée à celle des tumeurs luminales A et luminales B. Les cellules progénitrices luminales ont une signature proche de celle des tumeurs basales exprimant BRCA1. Les cellules souches mammaires ont une signature transcriptomique proche des sous-types "normale-like" et "claudin-low".

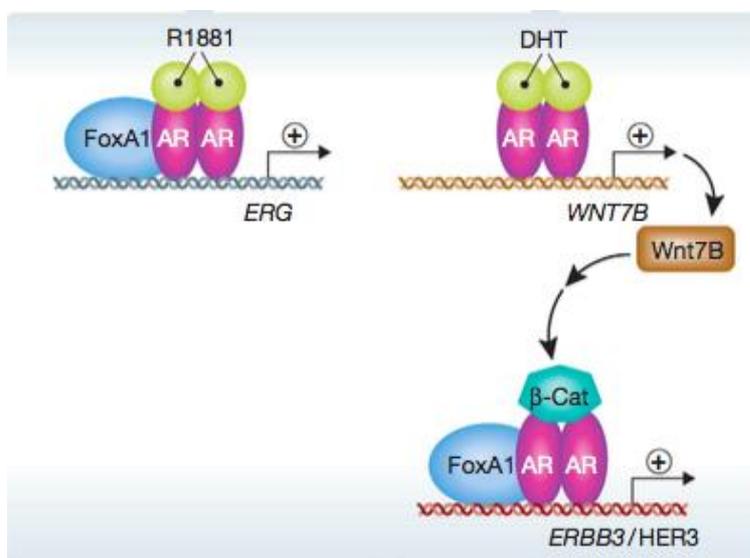
La signature des tumeurs moléculaires apocrines se rapproche plus de celle des cellules progénitrices luminales, dont elles seraient issues (Guedj et al. 2012).

Par la suite, plusieurs équipes ont confirmé que les tumeurs moléculaires apocrines sont des tumeurs lumineales, dans lesquelles le signal de transcription normalement transmis par les estrogènes est donné par la liaison de l'androgène à son récepteur (Iggo 2011).

Le laboratoire de Carroll a effectué sur la lignée cellulaire MDA-MB-453 considérée comme relativement proche des cancers moléculaires apocrines, une étude par CHIP-seq, soit un séquençage des fragments d'une immunoprécipitation de chromatine. Cette technique permet d'étudier les interactions ADN/ protéine, et ainsi de définir le cistrome qui est l'ensemble des gènes dont l'expression est induite par un facteur de transcription. Dans cette lignée, le cistrome du récepteur aux androgènes est similaire à 98% à celui induit par le récepteur aux oestrogènes dans les tumeurs lumineales. L'action des androgènes dans cette lignée est entièrement médiée par le facteur de transcription FoxA1, également impliqué dans les tumeurs lumineales (Robinson et al. 2011). Ainsi, dans les tumeurs moléculaires apocrines, le récepteur aux androgènes remplace le récepteur aux estrogènes, pour activer l'expression des gènes lumineaux.

Le laboratoire de Brown a aussi retrouvé un recoupement, moins important (d'environ 37%) entre les cistromes de RA et FoxA1. Ils ont aussi montré que l'activation de RA active la voie Wnt/  $\beta$ caténine, en induisant l'expression de WNT7B. La coopération entre la  $\beta$ caténine et RA entraîne une hyperexpression de HER3, qui par dimérisation avec HER2, induit la croissance cellulaire. Ceci crée une boucle de régulation positive entre RA et Her2 (Ni et al. 2011).

**Figure 4** : Les interactions de RA et FoxA1. D'après (Augello, Hickey, and Knudsen 2011)



## 5) Voie des androgènes

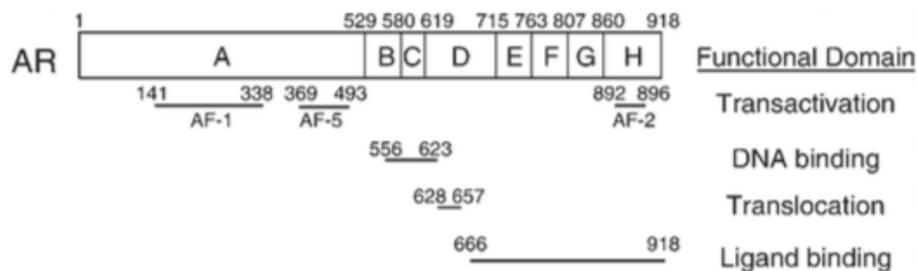
### 5.1) Rappel sur le récepteur aux androgènes et ses ligands

Le gène codant pour RA, comportant 8 exons, est situé sur le chromosome X (Xq11-12). Sa transcription est dépendante du type cellulaire et de l'âge.

Le récepteur aux androgènes (RA) est un récepteur aux hormones stéroïdes, appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaire (Gelman 2002). Le récepteur aux androgènes comporte 4 régions distinctes :

- un domaine N-terminal (exon 1), domaine de co-activation, qui active la transcription par interaction avec d'autres co-régulateurs
- le domaine de liaison à l'ADN (exon 2+3), région très conservée, avec des motifs en doigts de zinc qui se lient aux ARE (androgen-responsive-elements)
- le domaine C-terminal de liaison aux ligands, ou « ligand binding domain » (LBD)
- un domaine charnière permettant la translocation dans le noyau.

Figure 5 : Représentation schématique du récepteur aux androgènes



*Les exons sont numérotés de A à H.*

*Les différents domaines sont représentés, avec les acides aminés déterminants.*

En l'absence de ligand, RA est maintenu dans une conformation inactive par des « heat shock protein » comme HSP 90 et d'autres protéines chaperons. Lors de la liaison aux androgènes, RA est phosphorylé et change de conformation, permettant la formation du domaine de co-activation puis la dissociation des protéines chaperons et la dimérisation du récepteur. RA est ensuite transloqué dans le noyau où il se lie aux "androgen responsive elements". RA peut aussi interagir avec des protéines co-activatrices, comme ARA70,

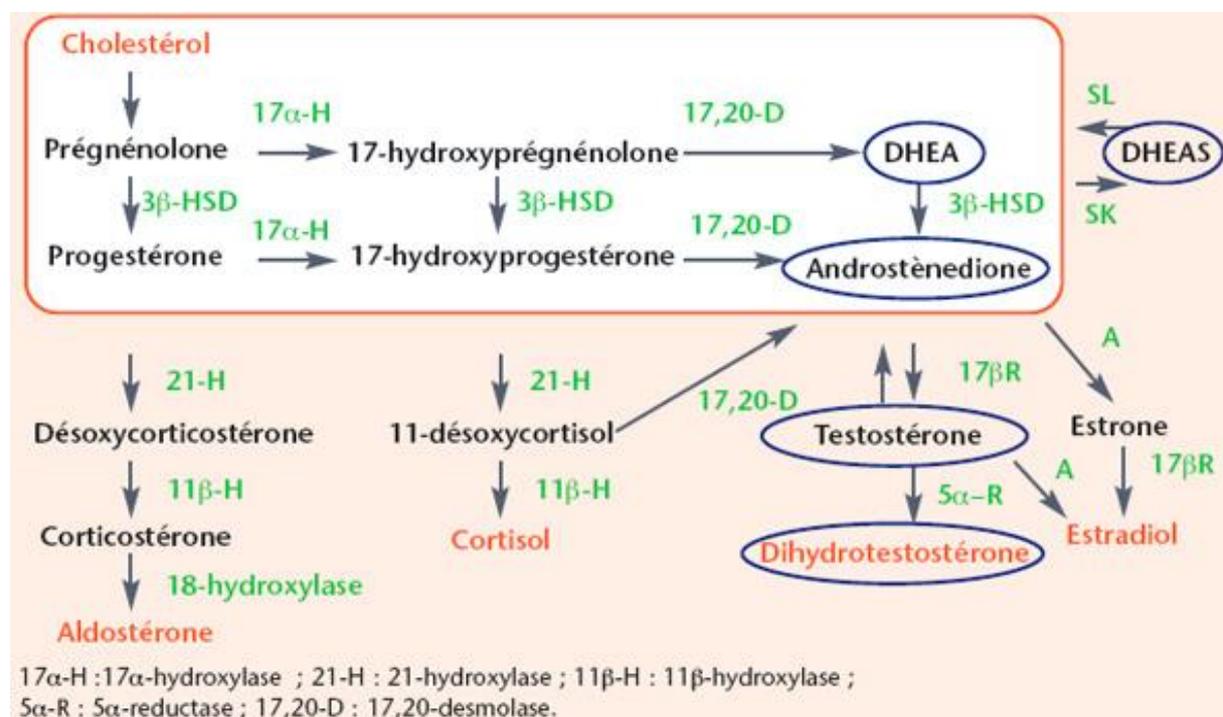
Smad3, SRC-1, et des protéines co-inhibitrices, comme Cycline D1 ou TR4 (H.-J. Lee and Chang 2003).

Ces co-régulateurs, par leurs interactions avec d'autres oncoprotéines ou voies de signalisation, permettent des phénomènes de crosstalk. RA est ainsi impliqué dans l'apoptose, via le TGF $\beta$ , et la voie de signalisation des MAP-kinases.

Les androgènes jouent un rôle clef dans la régulation de multiples fonctions vitales chez la femme, en agissant sur le tractus reproductif, les reins, les muscles... Ils peuvent agir en tant que prohormones des estrogènes, ou directement en se liant aux RA (Birrell et al. 2007).

Ils sont produits à partir du cholestérol et suite à de nombreuses réactions enzymatiques, dans les ovaires et les surrénales pour la testostérone, dans les surrénales uniquement pour l'androstenedione et la dehydroepiandrostenedione (DHEA). La testostérone et la dihydrotestostérone ont la meilleure affinité pour le RA. 99% de la testostérone circulante est liée à des protéines de liaison. Elle est transformée par la 5 $\alpha$ -réductase en dihydrotestostérone.

Figure 6 : Synthèse des androgènes



Les androgènes sont impliqués dans le développement normal du sein. L'hyperandrogénie (par exemple dans l'hyperplasie surrénale congénitale) bloque le développement mammaire. A l'inverse, les souris présentant un RA non fonctionnel présentent des anomalies de la morphogenèse du sein (Birrell et al. 2007).

En immunohistochimie, RA est exprimé dans les cellules luminales de tous les tissus mammaires, mais faiblement ou pas exprimé dans le stroma et les cellules myoépithéliales.

## **5.2) Le rôle complexe des androgènes dans la carcinogenèse mammaire**

In vitro, différentes réponses à l'administration d'androgènes sont observées selon les lignées de tumeurs mammaires.

Les androgènes stimulent la croissance cellulaire dans les lignées MCF-7 (RE+ et Her2- en IHC) et MDA-MB-453 (RE- et HER2+/-).

Ils inhibent la prolifération dans les lignées T47-D (RE+ et Her2-) et ZR-75-1 (RE+ et Her2+) (Proverbs-Singh et al. 2015).

Ces réponses opposées indiquent que des facteurs variés sont impliqués dans la voie des androgènes.

L'action des androgènes doit être interprétée selon le sous-type tumoral.

## **5.3) Action des androgènes dans les tumeurs RE+**

RA est exprimé dans 84 à 95% des tumeurs RE+ (R. Hu et al. 2011; Collins et al. 2011; Loibl et al. 2011; Safarpour, Pakneshan, and Tavassoli 2014).

Dans les analyses par sous-types tumoraux, il est exprimé à 91% dans les tumeurs luminales A, 68% dans les tumeurs luminales B (Collins et al. 2011; Safarpour, Pakneshan, and Tavassoli 2014).

Historiquement, l'expression de AR a été associée à un pronostic favorable, mais d'autres études ont montré que la voie des androgènes pouvait avoir une action oncogénique (R. Hu et al. 2011).

L'effet de la voie androgénique est différent chez les tumeurs hormono-sensibles et hormono-dépendantes.

### **5.3.1) Tumeurs RE+ hormono-sensibles**

Une expression élevée de RA est associée à un meilleur pronostic dans des tumeurs RE+ de stade localisé, donc avant l'apparition d'une hormono-résistance (Vera-Badillo et al. 2014). Ces tumeurs ont aussi été associées à un meilleur taux de réponse aux hormonothérapies (Park et al. 2011).

L'effet anti-prolifératif des androgènes dans ces tumeurs a été montré dans différentes études.

Peters et al, ont montré que RA peut inhiber la croissance cellulaire induite par le 17 $\beta$ -estradiol, son domaine de liaison à l'ADN rentrant en compétition avec les estrogènes pour la fixation sur les ERE (Peters et al. 2009).

L'équipe de Cops a montré que la mibolerone, un androgène synthétique, diminue la prolifération induite par l'estradiol dans la lignée T-47D, en diminuant l'expression du récepteur à la progestérone (Cops et al. 2008).

Les 2 isoformes de RE, RE $\alpha$  et RE $\beta$ , jouent des rôles opposés dans la régulation de la prolifération, RE $\beta$  ayant un rôle suppresseur de tumeur. La mibolérone induit une surexpression de RE $\beta$ , par recrutement de AR sur le promoteur du gène RE $\beta$  (Rizza et al. 2014).

Une autre hypothèse est que AR et RE rentrent en compétition pour la liaison à certains co-régulateurs (De Amicis et al. 2010).

Enfin, l'augmentation des androgènes périphériques sous l'effet des inhibiteurs de l'aromatase participe aux effets anti-prolifératifs induit par ces traitements (Macedo et al. 2006).

Cependant, l'équipe de Cochrane a montré qu'un taux nucléaire de RA/RE supérieur à 2 est prédictif d'un risque de résistance au Tamoxifène (Cochrane et al. 2014). Cette étude a permis d'envisager un rôle de RA dans l'apparition de résistances aux hormonothérapies.

### **I.5.C.b) Tumeurs ER+ hormono-résistantes**

Dans une étude de profils d'expression, il a été montré que AR est surexprimé dans les tumeurs ER+ devenue résistante au Tamoxifène, et que cette résistance peut être induite par une surexpression de AR dans des modèles de xénogreffes. (De Amicis et al. 2010)

Plusieurs voies de signalisation sont impliquées dans ce mécanisme de résistance induit par AR.

L'équipe de Ciupek a décrit un modèle de résistance au Tamoxifène induit par AR, à travers une activation de la voie EGFR, entraînant une activation de la voie Er $\alpha$ . Cette activation de la voie EGFR pouvait être inhibée par un anti-androgène. (Ciupek et al. 2015)

Enfin, Rechoum et al ont étudié le rôle de AR dans la résistance aux inhibiteurs de l'aromatase. Dans une lignée cellulaire de tumeurs ER+ surexprimant AR, résistante à l'anastrozole, la voie IGF-1R/ pAKT était suractivée, et un traitement par un anti-androgène restaurait l'effet de l'anastrozole. (Rechoum et al. 2014)

Ces études suggèrent que dans les tumeurs ER+ devenues hormono-résistantes, l'ajout d'un traitement anti-androgène pourrait restaurer la sensibilité aux hormonothérapies anti-oestrogènes.

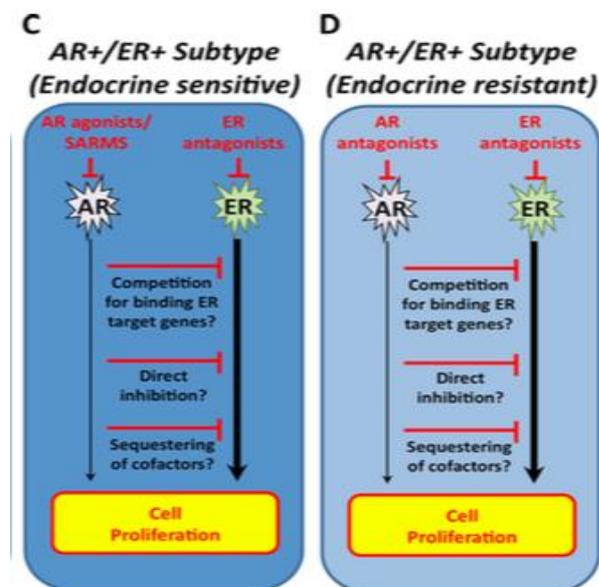
Plusieurs études testent cette hypothèse :

-une étude de phase 2 randomisée évaluant chez des patientes avec une tumeur ER/PgR+/Her2- l'association Exemestane + placebo versus Exemestane + un anti androgène, l'Enzalutamide. Cette étude est toujours en cours (Yardley et al. 2014)

- une étude de phase 2 randomisée, incluant 300 patientes, a évalué chez des patientes ayant une tumeur ER+ métastatique, un traitement par Exemestane seul versus Exemestane + acétate d'abiratérone et prednisone. Il n'y avait pas de différence en survie sans progression entre les 2 bras. (O'Shaughnessy et al. 2014)

En résumé, l'effet des androgènes dans les 2 types tumoraux, et les possibles interactions entre les voies ER et AR peuvent être ainsi représentés :

Figure 7 : Rôle des androgènes dans les tumeurs ER positives, d'après (Lim et al. 2014)



### I.5.D) Action des androgènes dans les tumeurs triple négative AR+

Dans les tumeurs triple négatives, le taux de tumeurs exprimant AR varie de 10 à 53%. Cette variabilité peut s'expliquer par la petite taille des séries, et le choix de seuils différents pour la positivité de AR. (K. Chia et al. 2015)

Comme cité précédemment, le laboratoire de Carrol a montré que le cistrome de AR dans les tumeurs moléculaires apocrines médié par FoxA1, recoupe le cistrome de ER dans les tumeurs lumineales. (Robinson et al. 2011)

L'équipe de Brown, par les mêmes techniques mais en conditions expérimentales différentes, a précisé ce résultat. Elle a montré que dans la lignée MDA-MB-453, le cistrome de AR chevauche celui de ER dans les tumeurs lumineales, mais aussi celui de AR dans les cellules d'adénocarcinome prostatique. (Ni et al. 2011)

Ainsi, dans les tumeurs moléculaires apocrines, AR a un rôle double : il agit comme ER dans les tumeurs lumineales, mais aussi comme AR dans les tumeurs prostatiques.

Dans les différentes études identifiant les tumeurs moléculaires apocrines (Doane et al. 2006; Guedj et al. 2012), ou LAR (Lehmann et al. 2011), ces tumeurs sont sensibles aux anti-androgènes de type bicalutamide, par un effet anti-prolifératif direct.

En 2009, Gonzalez-Angulo et al ont montré que les tumeurs du sein avec une mutation du domaine kinase de PIK3CA, avaient une expression plus forte de AR. Cette association était retrouvée à la limite de la significativité dans les tumeurs triple-négatives. (Gonzalez-Angulo et al. 2009)

Par la suite, l'équipe de Lehmann a confirmé que dans les tumeurs triple négatives, les mutations de PIK3CA sont plus fréquentes dans les tumeurs AR+ que AR- (40% versus 4%), et plus fréquemment associées à des amplifications du locus de PIK3CA. Les inhibiteurs de PI3K/mTOR ont un effet anti-prolifératif synergique avec des siRNA de AR dans ces lignées. La combinaison du bicalutamide avec un pan-PI3K inhibiteur dans des xénogreffes a aussi montré un effet additif. (Lehmann et al. 2014)

Cette étude offre un rationnel pré-clinique important pour l'association de ces traitements (cf infra)

Une autre équipe a travaillé sur les interactions entre diverses voies de signalisation et les tumeurs triples négatives exprimant AR (indépendamment de leur profil d'expression). Ils ont analysé l'expression de AR en Western Blot, et l'activation de récepteurs tyrosine kinases membranaires, et leurs voies de signalisation d'aval.

Ils ont montré que l'expression de AR est positivement associée à l'activation de EGFR et PDGFR $\beta$ . L'inhibition de la voie PI3K/mTOR (voie activée par EGFR), dans ces lignées cellulaires triple négatives AR+, diminue fortement l'expression de AR. L'administration concomitante au bicalutamide d'inhibiteurs de EGFR, PDGFR $\beta$  et ERK1/2 (voie activée par PDGFR $\beta$ ) diminue l'expression de AR, plus que lorsque ces agents sont administrés seuls.

Au total, l'expression de AR est régulée de manière post-transcriptionnelle par l'inhibition de PI3K et ERK1/2. (Cuenca-López et al. 2014)

### **I.5.E) Action des androgènes dans les tumeurs ER négatives, Her2+/AR+**

L'association d'une expression de HER2 et AR est fréquente : 50 à 81% des tumeurs Her2+ expriment AR. En analyse par profil d'expression 59% des tumeurs du sous-type Her2 expriment AR. (Proverbs-Singh et al. 2015))

Par ailleurs, le cistrome de AR, dans la lignée cellulaire MDA-MB-453, représentative du phénotype ER-/Her2+/AR+, recoupe fortement le cistrome de ER dans les tumeurs ER+.

Ceci suggère un rôle oncogénique essentiel de AR dans les tumeurs Her2+.

En 2011, Ni et al ont analysé, comme décrit plus haut, l'ensemble des gènes dont la transcription est activée par AR. Ils ont montré que sous l'action de la dihydrotestostérone, les cellules MDA-MB-453 surexpriment les gènes de la voie Wnt, avec notamment un ARE proche du locus du ligand WNT7B. Ce ligand permet et la stabilisation et l'activation de la  $\beta$ caténine.

La  $\beta$ caténine agit aussi comme un co-régulateur de AR. Le complexe AR/  $\beta$ caténine peut se lier à certains promoteurs, dont celui du gène Her3, et stimuler son expression.

Her3 est un déterminant essentiel du rôle oncogénique de Her2 dans les cancers du sein, car HER2 doit se dimériser avec un autre récepteur de la famille HER pour être phosphorylé et déclencher ses voies de signalisation.

L'activation de la voie PI3K/AKT, médiée par Her3, est essentielle pour la survie et la prolifération cellulaire. (Ni et al. 2011)

Dans les cancers prostatiques, Terry et al ont montré que l'activation de la voie Wnt et de la  $\beta$ caténine entraîne une surexpression de AR et augmente son activité transcriptionnelle. (Terry et al. 2006)

Il existe une boucle de régulation positive entre AR, la voie Wnt et Her3 dans les tumeurs Her2+/ AR+.

Le laboratoire de M. Brown a aussi décrit un autre système de régulation des tumeurs moléculaires apocrines impliquant AR et MYC. (Ni et al. 2013)

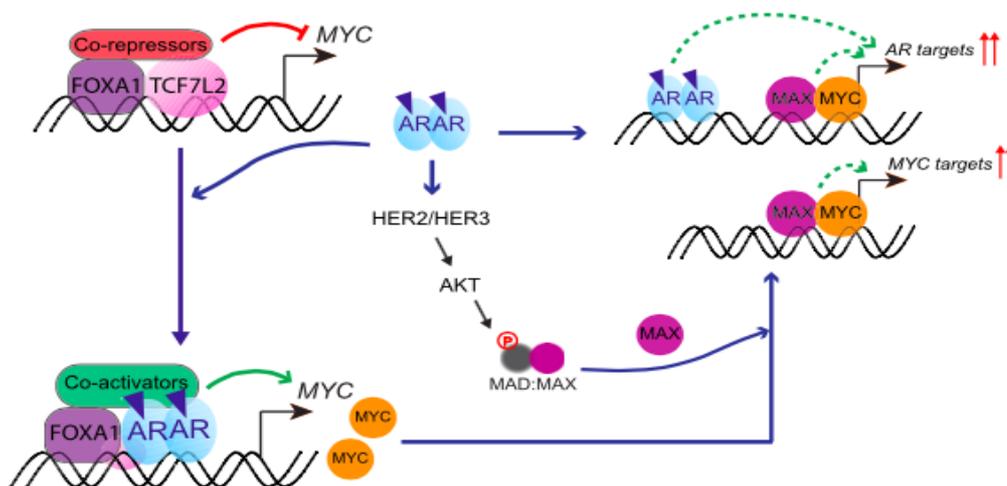
MYC est un des oncogènes les plus fréquemment activés, dans de nombreux types de cancers, avec une grande influence sur la prolifération cellulaire, la survie, la différenciation.

La transcription de MYC est stimulée par la voie ER dans les tumeurs ER+, et de même, elle est induite par les androgènes dans les tumeurs moléculaires apocrines.

AR active directement la transcription du gène c-MYC, en se liant avec FoxA1 et en annulant l'effet de répression transcriptionnelle de TCF7L2. L'activation de la voie Her2/Her3 par AR augmente aussi l'activité transcriptionnelle de c-MYC en antagonisant MAD, un compétiteur de c-MYC pour la liaison avec MAX.

Parmi les gènes activés par c-MYC, on retrouve les promoteurs de AR, ce qui aboutit à une autre boucle de régulation.

**Figure 8 :** Boucle de régulation entre AR et c-MYC d'après (Ni et al. 2013)



Légende : Boucle de régulation entre AR et c-MYC

En 2008, Naderi et al ont mis en évidence un phénomène de « cross-talk » fonctionnel entre les voies AR et Her2 dans les tumeurs ER-, impliquant la voie ERK. (Naderi and Hughes-Davies 2008)

Ils ont approfondi ce phénomène dans un article paru en 2011. (K. M. Chia et al. 2011)

Ils ont montré que AR stimule la phosphorylation de ERK et son activité kinase. Cette phosphorylation de ERK nécessite la participation de Her2, qui est lui-même une cible transcriptionnelle de AR.

Par ailleurs, ERK régule l'expression de AR, via le facteur de transcription CREB1.

Ces résultats ont été confirmés in vivo sur des xénogreffes de tumeurs moléculaires apocrines. Les auteurs ont aussi analysé le profil IHC de 24 tumeurs mammaires ER-, et ont montré que l'expression en IHC des protéines cibles de ERK (phospho-elk-1 et c-fos) est augmenté dans les tumeurs AR+.

Ceci constitue donc une autre boucle de régulation positive, entre AR et ERK, dans les tumeurs moléculaires apocrines.

Les mêmes auteurs ont par la suite testé les conséquences de cette boucle en thérapeutique : ils ont montré qu'il existe une synergie entre les anti-androgènes et un

inhibiteur de MEK, in vitro et sur des xénogreffes de tumeur moléculaire apocrine. Cette combinaison pourrait être utile dans les cas de résistance au trastuzumab des tumeurs Her2+. (Naderi, Chia, and Liu 2011)

L'analyse du rôle de Her2 dans ces différents sous-groupes fait envisager de nombreuses possibilités thérapeutiques.

## **I.6) Fréquence et histoire naturelle des tumeurs**

### **moléculaires apocrines**

Dans ce chapitre, nous étudierons en premier l'épidémiologie et le pronostic des tumeurs moléculaires apocrines, décrites par profil d'expression.

Puis nous étudierons les séries histologiques décrivant l'impact de l'expression de AR pour ces mêmes facteurs.

#### **I.6.A) Dans les études transcriptomiques**

Les 2 plus anciennes études ayant établi l'existence, par analyse transcriptomique, des tumeurs moléculaires apocrines (Farmer et al. 2005; Doane et al. 2006) ou entités les recoupant, comportent de petits effectifs.

L'évaluation de l'incidence, des caractéristiques cliniques et histologiques et de l'histoire naturelle de ces tumeurs dans ces cohortes est donc limitée.

Dans l'étude de Farmer et al, portant sur 49 tumeurs localisées de stade T2 à T4, 6 tumeurs moléculaires apocrines ont été identifiées. Elles avaient toutes un profil IHC ER-/AR+, et des caractéristiques apocrines en histologie.

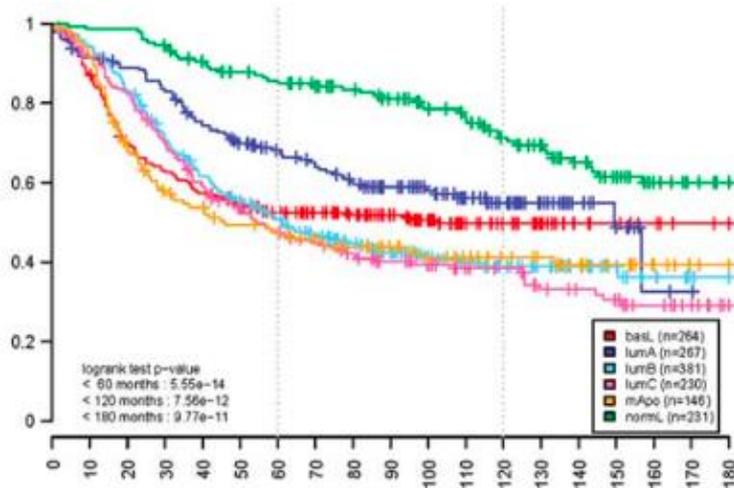
Les caractéristiques des patientes et des tumeurs, ainsi que leur histoire naturelle, n'étaient pas décrites. Cependant les auteurs ont identifié les tumeurs moléculaires apocrines présentes dans 4 autres sets de tumeurs, et ont retrouvé une fréquence de ces tumeurs de 8 à 14%. Les données de survie étaient disponibles pour les sets de Sorlie et Van't Veer et montraient un plus mauvais pronostic de ces tumeurs. (Farmer et al. 2005)

Dans l'étude de Doane, sur 99 tumeurs dont 41 ER-, 10 étaient classées comme ER- classe A, soit une fréquence plus élevée qu'il était attendu. Les données cliniques n'étaient pas disponibles. (Doane et al. 2006)

Dans l'étude de Guedj, sur 355 tumeurs assignées aux 6 clusters définis, 39 appartiennent au cluster moléculaire apocrine, soit 10%. (Guedj et al. 2012) Elles sont Her2+ en IHC dans 68% des cas, Her2- dans 38% des cas. Ces tumeurs sont majoritairement de sous-type

canalaire non spécifique et de grade 3. Le taux de rechutes métastatiques à distance est de 38% à 60 mois, où il atteint un plateau à la différence des tumeurs lumineuses.

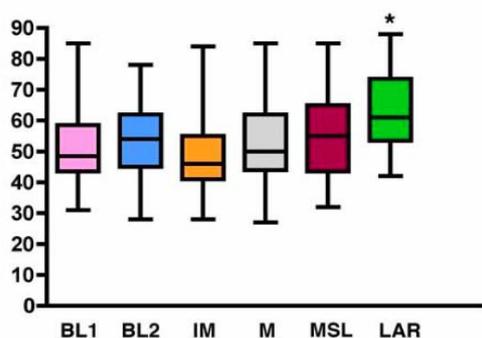
**Figure 9 :** Survie sans métastases à distance, selon le sous-groupe. (Guedj et al. 2012)



Le taux de RCH a été évalué dans 3 cohortes, soit au total 307 patientes, ayant été traitées selon 4 protocoles de chimiothérapie différents : il est de 37% dans le cluster moléculaire apocrine.

Lehmann et al ont identifié selon leurs profils transcriptomiques, dans 21 sets de tumeurs, 587 tumeurs triple négatives. Parmi les 6 sous-groupes décrits, les tumeurs « luminal androgen receptor » (LAR) dont la fréquence n’est pas détaillée, survenaient chez des femmes plus âgées.

**Figure 10 :** Age au diagnostic par sous-groupes (Lehmann et al. 2011)



La survie sans rechute était significativement diminuée dans le sous-groupe LAR, en comparaison aux autres sous-groupes. En revanche la survie sans métastases à distance ne variait pas significativement, ceci suggérant que les rechutes dans le sous-groupe LAR sont principalement des rechutes locales.

Figure 11 : Survie sans rechute (Lehmann et al. 2011)

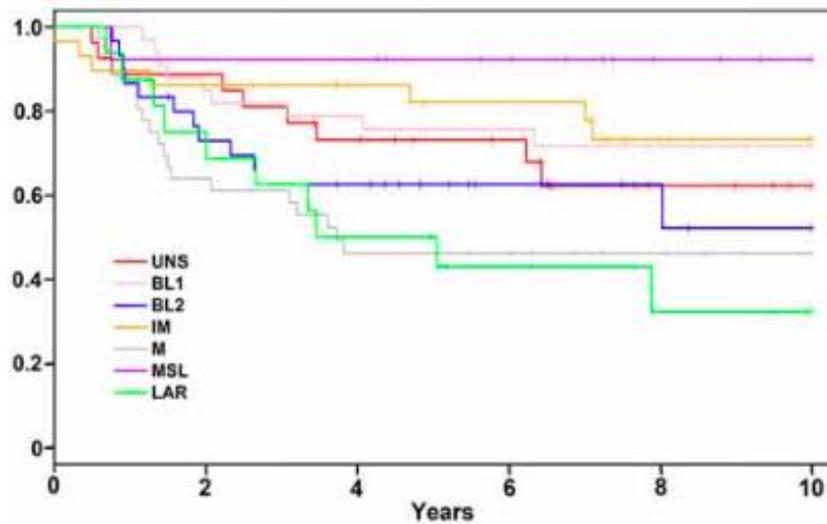
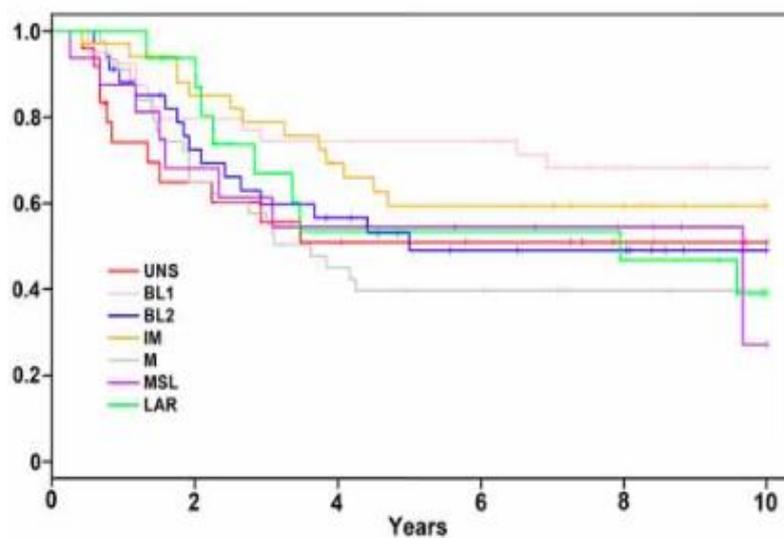
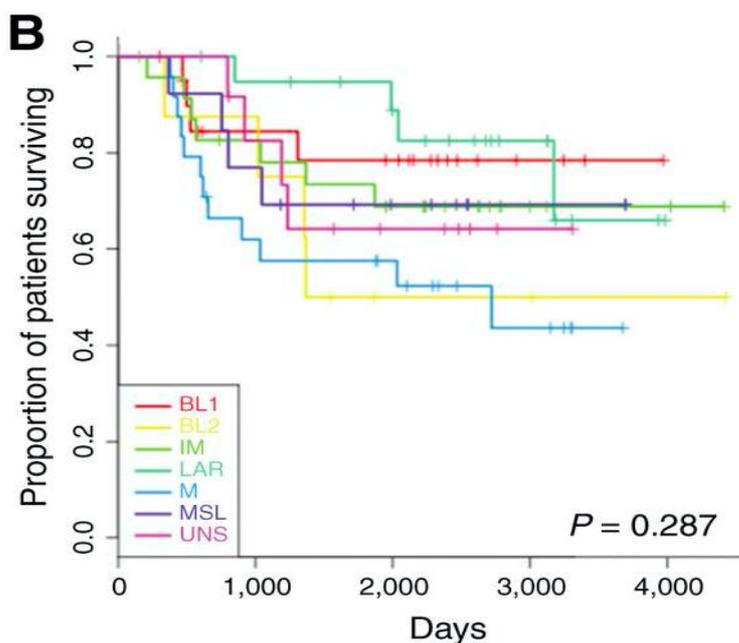


Figure 12 : Survie sans métastases à distance (Lehmann et al. 2011)



Masuda et al, ont analysé le taux de RCH de 146 tumeurs triples négatives, classées selon les sous-groupes de Lehman et al. Sur 130 traitées par chimiothérapie néo-adjuvante, les 20 tumeurs de type LAR avaient un taux de pCR de 10%, soit significativement plus bas que dans les autres sous-groupes (à l'exception du sous groupe « basal-like 2 »). En dépit de son faible taux de pCR, le sous-groupe LAR avait le meilleur taux de survie-globale. (Masuda et al. 2013)

Figure 13.: Survie globale selon le sous-groupe (Masuda et al. 2013)



### II.3.B) Dans les séries immunohistochimiques

Plusieurs études ont été publiées, depuis les années 80, sur l'expression de AR dans des séries de cancers du sein, et sa corrélation avec les données cliniques, les caractéristiques histologiques des tumeurs et leurs pronostics.

Cependant ces séries sont extrêmement hétérogènes, et peuvent retrouver des résultats discordants, en raison de plusieurs biais : (McNamara et al. 2013)

- dans les séries les plus anciennes, Her2 n'étaient pas recherché
- le type de tumeur varie ( carcinome/ carcinome infiltrant/ carcinome infiltrant non spécifique) ainsi que site de prélèvement (tumeur primitive ou site métastatique)

-le type d'Anticorps choisi, ainsi que la définition de leur positivité est variable selon les études. La définition du statut Her2 positif a aussi été régulièrement modifiée.

-Certaines études sont anciennes, et le suivi des patientes est aussi plus ou moins prolongé selon les études.

Nous nous concentrerons ici sur les publications concernant les tumeurs ER-/Her2-/ AR+, et les tumeurs ER-/ Her2+/ AR+.

### I.6.B.a) Incidence des tumeurs AR+

Les méthodes employées dans les différentes séries ayant étudié les tumeurs moléculaires apocrines sont décrites dans le tableau 4.

La fréquence des tumeurs moléculaires apocrines, et moléculaires apocrines Her2+ et Her2- est aussi reportée.

**Tableau 4 :** Méthodes IHC et fréquence des tumeurs moléculaires apocrines

Auteur	Type histologique	Population	Critère de positivité AR en IHC	Critère de positivité de ER/ PgR	Critère de positivité de Her2	Fréquence des tumeurs MA	Fréquence tumeurs MA Her2+/ MA Her2-
Agoff (1)	C. infiltrant ER+ et ER-	N=88 69ER-/18 ER+	>5%	>5%	3+ IHC, 2+ et FISH+	49% T. ER-	58%MA Her2+/ 38% MA Her2-
Niemeier(2)	C infiltrant	N=189 36T ER-	Hscore>10	Hscore>10	3+ IHC, 2+ et FISH +	4% T.	62% MA Her2+/ 37% MA Her2-
Park (3)	C Infiltrant	N=413 118 T. ER-	>10%	>10%	2+et 3+IHC	14% T.	46% MA Her2+/ 54% MA Her2-
Collins (4)	C. infiltrant et CIS	N=2171 1701 C. infiltr	≥1%	≥1%	2+ et 3+	10,8% T. 39% T ER-	ND
Hu (5)	C infiltrant	N=1467 1164 ER-	≥1%	≥1%	ND	88% T ER-	ND
Loibl (6)	C infiltrant	N=673 111 TNBC	3+ (Remmele score)	≥10%	2+ IHC	21% TNBC 62,5 T. ER- Her2+	51% MA Her2+ 49% MA Her2-

Micello (7)	CI-NST	N=232	≥10%	≥10%	3+	31% TNBC 76,7% T.ER- Her2+	
-------------	--------	-------	------	------	----	----------------------------------	--

Légende : 1 : (Agoff et al. 2003)- 2 : (Niemeier et al. 2010)- 3 : (Park et al. 2010)- 4 : (Collins et al. 2011)- 5 : (R. Hu et al. 2011) – 6 : (Loibl et al. 2011)- 7 : (Micello et al. 2010)

C. : Carcinome ; CIS : carcinome in situ ; T. : Tumeur ; ND : non décrit

A noter, l'étude de Hu retrouve un taux de tumeurs ER- AR+ très élevé. Ceci est probablement lié aux techniques immunohistochimiques. (R. Hu et al. 2011)

La cohorte de la Nurses' Health Study, publiée par Collins en 2011, a inclus et suivi des patientes de 1976 à 1996, avec des résultats forcément hétérogènes. (Collins et al. 2011)

### I.6.B.b) Caractéristiques cliniques et histologiques, résultats de survie dans des séries rétrospectives

Les caractéristiques des patientes atteintes d'une tumeur moléculaire apocrine, et les caractéristiques histologiques des tumeurs, sont présentées dans le tableau 5. Les taux de survie sans récurrence, survie sans récurrence à distance et survie globale, lorsqu'ils ont été recherchés, sont aussi décrits.

**Tableau 5 : Caractéristiques des tumeurs MA et données de survie**

Auteur	Caractéristiques des patientes avec tumeurs MA	Caractéristiques des tumeurs MA	Suivi moyen	Survie sans récurrence	Survie sans récurrence à distance	Survie globale
Agoff	Plus âgées- ménopausées	Faible grade Petite taille	20 mois	84% T. MA	ND	ND
Niemeier		Bas grade Peu de nécrose 6/8 C apocrines	ND	ND	ND	ND
Micello	Plus âgées	Plus souvent N+	ND	ND	ND	ND
Choi (8)		Diff. Apocrine Ki67 bas		< TNBC p=0,189		<TNBC p=0,026
Safarpour (9)		10/18 MA Her2- et 14/14 sont C. apocrines				
Hu			14 ans	92% à 5ans 85% à 10ans	ND	91% à 5ans 80% à 10ans

Légende : 8 : (J. Choi, Jung, and Koo 2012)- 9 : (Safarpour, Pakneshan, and Tavassoli 2014)

Dans une étude chinoise incluant 287 tumeurs triple négative, la positivité de AR était significativement associée à une meilleure survie sans maladie ( $p=0,032$ ). (He et al. 2012)

Dans la série de Choi de 2015, les tumeurs triple négatives AR+ étaient plus fréquemment associées à un mauvais pronostic, en analyse uni et multivariée. (J. E. Choi et al. 2015)

### **I.6.B.c) Survie et réponse à la chimiothérapie dans des études prospectives**

Loibl et al ont analysé un TMA incluant 673 biopsies de tumeurs traitées par chimiothérapie néo-adjuvante dans l'étude GeparTrio. Après 60 mois de suivi, dans les tumeurs triple négatives, la positivité de AR était significativement associée à une meilleure survie sans progression et survie globale: respectivement 85,7% et 95,2% pour les tumeurs AR+, et 65,5% et 76,2% dans les tumeurs AR-. Ces différences n'étaient pas significatives pour les tumeurs Her2+, avec une survie sans progression et une survie globale de 61,1% et 83,3% dans le groupe AR+, versus 50% et 67,9% dans le groupe AR-. (Loibl et al. 2011)

Pour les tumeurs triple négatives, le taux de RCH après chimiothérapie néo-adjuvante était de 29,2% dans le groupe AR+, versus 33,3% dans le groupe AR- ( $p= 0,699$ ). Pour les tumeurs Her2+, le taux de RCH était de 38,7% dans le groupe AR+, versus 45,4% dans le groupe AR- ( $p=0,778$ ).

Dans le sous-groupe de patientes n'étant pas en RCH après la chimiothérapie néo-adjuvante, la positivité de AR était associée à une meilleure survie sans rechute ( $p=0,045$ ) et une meilleure survie globale ( $p=0,021$ ). Au total, les patientes ayant une tumeur AR+ avait moins de chance d'obtenir une RCH, mais elles avaient une meilleure survie, en particulier lorsqu'elles n'avaient pas obtenu une RCH.

Lakis et al ont analysé 807 biopsies de patientes ayant reçu une chimiothérapie adjuvante après la chirurgie, contenant ou non des taxanes. La survie sans rechute et la survie globale des tumeurs moléculaires apocrines était comparables à celles des tumeurs luminales, et significativement meilleures que celles des tumeurs « hormone receptor negative ». Les tumeurs moléculaires apocrines ayant reçu une chimiothérapie adjuvante avec taxanes avaient une meilleure survie globale (HR : 0,31 ;  $p=0,035$ ). Cependant, la fréquence élevée des tumeurs Her2+ dans ce sous-type peut induire un biais. (Lakis et al. 2014)

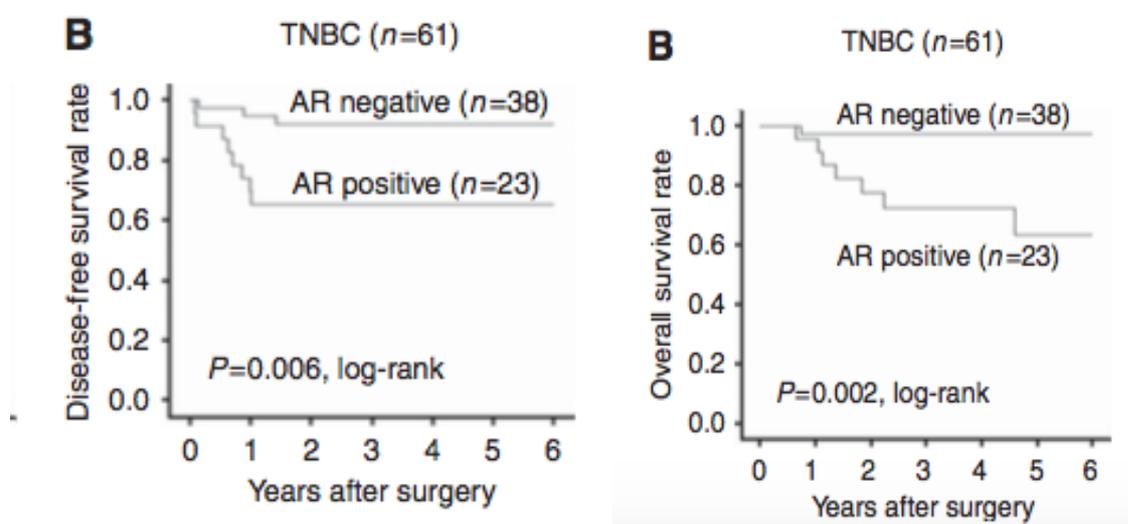
Enfin, Asano, et al ont relu les biopsies de 177 carcinome infiltrants du sein, de stade IIA, IIB ou IIIA, traitées par chimiothérapie néo-adjuvante (4 FEC -12 Taxol hebdomadaires) puis chirurgie. Il y avait dans le groupe des tumeurs triple négative (TNBC : ER-/PgR-/Her2-), 23/38 tumeurs AR+, dans le groupe des tumeurs Her2+ (HER2BC : ER-/PgR-/Her2+), 30/36 tumeurs AR+. (les seuils de positivité étaient de 1% pour AR, ER et PgR).

Le taux de RCH dans les TNBC était de 17,4% pour les TNBC AR+, versus 63,2% pour les TNBC AR- (P=0,01)

Le Taux de récurrence était aussi plus fréquent dans les TNBC AR (p=0,006). Sur les 11 patientes ayant rechuté dans ce sous-groupe, 8 avaient une rechute axillaire ou de la paroi thoracique. Ces 8 rechutes ont été rebiopsiées, et dans 3 cas, les AR n'étaient plus retrouvés.(Asano et al. 2016)

Les données de rechute sont présentées dans les figures suivantes

Figure 14 : Survie sans récurrence et survie globale, d'après (Asano et al. 2016)



Les deux études récentes évaluant le taux de CRH après chimiothérapie néo-adjuvante (Loibl et al. 2011; Asano et al. 2016), ainsi que celle de Masuda en analyse transcriptomique (Masuda et al. 2013), sont concordantes et retrouvent une moindre chimiosensibilité des tumeurs moléculaires apocrines.

L'étude de Yu, apporte un autre éclairage sur la chimiosensibilité des tumeurs moléculaires apocrines Her2-. (Yu et al. 2013)

Les tumeurs triple-négatives n'étant pas en RCH après chimiothérapie néoadjuvante ont un très mauvais pronostic (Liedtke et al. 2008). Yu et al ont établi une signature pronostic comprenant 7 gènes, prédisant le risque de rechute à 3 ans. Parmi les 7 gènes, l'expression de AR et GATA3 (fréquemment exprimé dans les tumeurs luminales) étaient associées à un risque de rechute plus faible. Ils ont appliqué cette signature aux 7 sous-types décrits par Lehman et al, et montré que les tumeurs LAR étaient celles qui avaient le meilleur pronostic en cas de maladie résiduelle après chimiothérapie néo-adjuvante, les tumeurs « mesenchymal » et « mesenchymal stem-like » ayant le plus mauvais.

Le taux de survie sans rechute à 3ans pour les tumeurs de mauvais pronostic est de 48,5%, celui pour les tumeurs de meilleur pronostic est de 78,9%. Un traitement complémentaire a donc sa place dans ce 2e sous-groupe. Vu la chimiorésistance de ces tumeurs, les alternatives thérapeutiques sont à privilégier, et les traitements ciblant la voie des androgènes pourraient avoir toute leur place dans les tumeurs exprimant AR.

## **I.7) Thérapeutiques ciblant la voie des androgènes**

### **I.7.A) Les traitements**

Les molécules ciblant la voie des androgènes sont un pilier essentiel des traitements des cancers de la prostate résistant à la castration (CRPC), pouvant être obtenue par pulpectomie ou par agonistes de la Gn-RH ou de la LH-RH.

De nombreuses molécules ont été découvertes depuis les années 2 000, devenues depuis des standards thérapeutiques dans le cancer de la prostate, et de nombreuses équipes ont travaillé sur les mécanismes de résistance à ces traitements, leurs effets secondaires, leurs possibles combinaisons. (Proverbs-Singh et al. 2015)

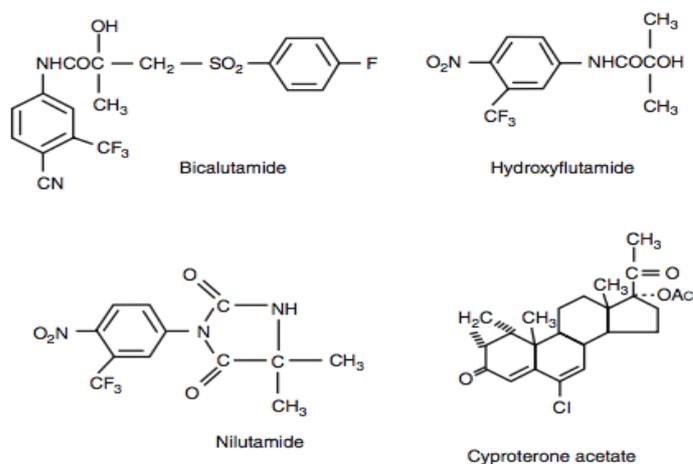
Nous bénéficions donc de ces avancées, et le design des essais cliniques évaluant ces traitements peut donc être simplifié, les doses minimales efficaces, ou maximales tolérées étant déjà connues.

#### **I.4.A.a) Les anti-androgènes de 1<sup>e</sup> génération**

Le bicalutamide, le nilutamide et le flutamide sont des anti-androgènes non stéroïdiens de 1<sup>e</sup> génération. Ils se lient au « ligand-binding-domain » (LBD) de AR avec une affinité plus faible que celles des androgènes. Les anti-androgènes stéroïdiens, comme l'acétate de cyprotérone, ne sont plus recommandés.

Ils sont utilisés dans le cancer de prostate pour prévenir le phénomène de «flare-up », élévation transitoire du taux de testostérone survenant à l'initiation d'analogue de la GnRH. Le double blocage associant agoniste de la Gn-RH et anti-androgènes a aussi été utilisé, mais n'est actuellement plus recommandé.

Figure 15 : Structure des anti-androgènes (Gillatt 2006)



Les effets secondaires des anti-androgènes sont principalement des effets de classe. A court terme, ils entraînent des troubles de l'érection et de la libido, un syndrome climatérique, une anémie. L'élévation paradoxale de l'estradiolémie peut entraîner une gynécomastie et des douleurs mammaires. A long terme, ils peuvent entraîner un syndrome métabolique, une ostéopénie, des troubles de l'humeur et des troubles cognitifs.

Des toxicités hépatiques sont décrites sous flutamide. Le nilutamide, et à moindre fréquence le bicalutamide peuvent provoquer des pneumopathies interstitielles. (Gillatt 2006)

Le principal mécanisme de résistance aux anti-androgènes de 1<sup>e</sup> génération est la survenue de mutations du AR provoquant une inversion de l'effet antagoniste en effet agoniste. Des mutations du LBD aux codons 741, 874, 877 ont notamment été décrites sous bicalutamide. (Hara et al. 2003). Cet effet est responsable du syndrome de retrait des anti-androgènes, avec une réponse parfois durable à l'arrêt de ces traitements.

### I.7.A.b) Anti-androgène de 2<sup>e</sup> génération : l'Enzalutamide

L'enzalutamide est un anti-androgène non stéroïdien de 2<sup>e</sup> génération. Il se lie au AR avec une affinité plus forte que les anti-androgènes de 1<sup>e</sup> génération, réduit sa translocation nucléaire et bloque sa fixation sur les ARE et à ses co-activateurs. (Tran et al. 2009)

L'enzalutamide est indiqué dans les CRPC, en 2<sup>de</sup> ligne après chimiothérapie, où il a montré dans une étude de phase III randomisée contre placebo (étude AFFIRM) un allongement de la survie globale (18,4 versus 13,6 mois ; HR=0,63 p<0,001). Les objectifs secondaires : diminution du PSA > 50%, temps jusqu'à progression du PSA, temps jusqu'au 1<sup>er</sup> « skeletal-related event » étaient tous en faveur du bras enzalutamide. (Scher et al. 2012)

L'essai PREVAIL, chez des patients atteints de CRPC métastatique naïfs de chimiothérapie, a été stoppé lors d'une analyse intermédiaire planifiée, lorsqu'il a montré une réduction du risque de décès de 29% (HR : à,71 95%CI 0,60-0,84 p>0,001) dans le bras enzalutamide par rapport au bras placebo. (Beer et al. 2014)

Les effets secondaires de l'enzalutamide décrits dans ces 2 études sont l'asthénie, les diarrhées, les bouffées de chaleur, l'hypertension artérielle. 5 crises convulsives (soit une incidence de 0,6%) sont survenues sous enzalutamide dans l'étude AFFIRM. Elles sont survenues chez des patients ayant des facteurs favorisant les convulsions, mais une étude de phase IV est en cours pour évaluer leur incidence chez les patients à haut risque.

Les mécanismes de résistance à l'enzalutamide sont en cours d'identification. Comme avec les anti-androgènes de 1<sup>e</sup> génération, une mutation du LBD du AR, entraînant un switch de l'effet antagoniste pour un effet agoniste, a été décrite. (Balbas et al. 2013)

L'activation de la voie du récepteur aux glucocorticoïdes, récepteur nucléaire de la même famille que AR, induit une résistance à l'enzalutamide. Dans une analyse rétrospective de l'étude AFFIRM, les patients traités par corticostéroïdes avaient une réduction de leur survie globale.

Les phénomènes de « cross-talk » entre la voie du AR et la voie PI3K/AKT/mTOR, avec des boucles de régulations positives croisées, sont aussi un potentiel mécanisme de résistance. (Carver et al. 2011)

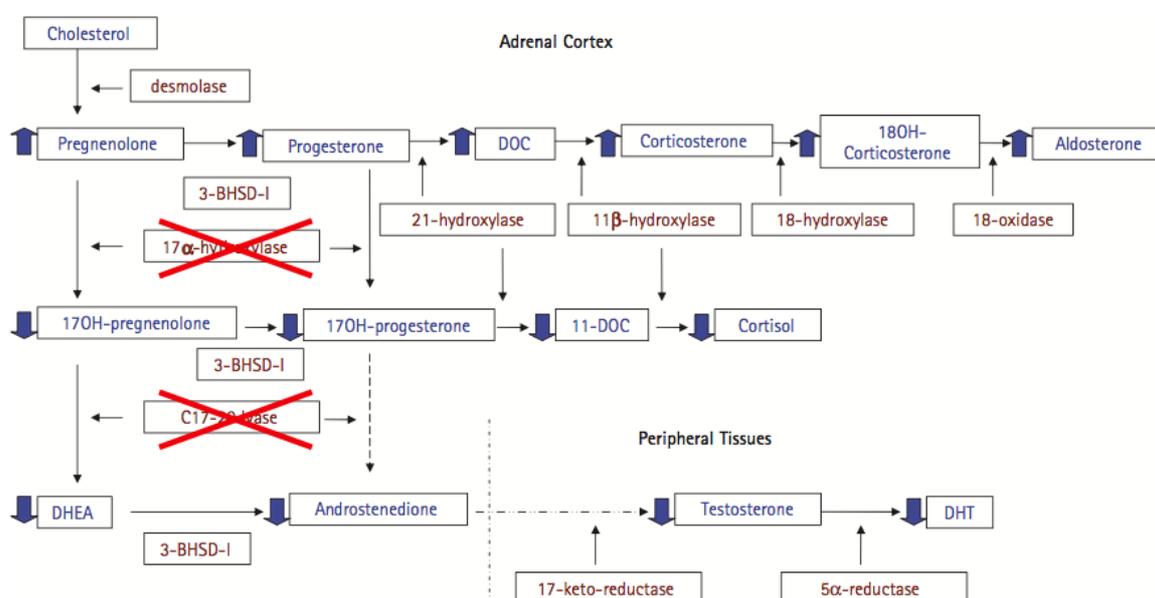
Enfin, différents variants d'épissage du AR, notamment AR-V7, entraînant un gain de fonction ou une expansion clonale de AR ont été décrits. (Watson et al. 2010) Les patients ayant un AR-V7 détectable dans leurs cellules tumorales circulantes ont des taux de réponse à l'enzalutamide et une survie globale très diminués. (Antonarakis et al. 2014)

### I.7.A.c) Inhibiteur de la biosynthèse des androgènes : l'acétate d'abiratéron

L'acétate d'abiratéron est un inhibiteur sélectif des 17 $\alpha$ -hydroxylase/c17,20-lyase, enzymes nécessaires à la biosynthèse des androgènes dans les surrénales et dans les cellules tumorales (sécrétion intracrine). (Attard, Beldegrun, and De Bono 2005)

En bloquant la transformation de la pregnenolone en 17-OH pregnenolone, il diminue la synthèse de cortisol, et provoque un rétrocontrôle positif sur la synthèse des minéralocorticoïdes, entraînant un hyperaldostéronisme.

Figure 16 : Biosynthèse des androgènes



L'essai COU-AA-301, chez des patients atteints de CRPC déjà traités par Docetaxel, a montré un allongement de la survie globale dans le groupe abiratéron + prednisone par rapport au bras placebo + prednisone (15,8 versus 11,2 mois HR : 0,74 95%CI 0,64- 0,86, p< 0,001) (Fizazi et al. 2012)

L'essai COU-AA-302, chez des patients ayant un CRPC métastatique naïfs de chimiothérapie, a montré un allongement de la survie globale médiane sous prednisone + abiratéron versus placebo. (Ryan et al. 2013)

Les effets secondaires décrits dans ces 2 études, généralement de grade 1 ou 2, sont la fatigue, l'anémie, des perturbations du bilan hépatique, et les effets de l'hyperaldostéronisme (oedèmes, hypertension, hypokaliémie).

Comme sous enzalutamide, l'apparition du variant d'épissage AR-V7 entraîne une résistance à l'abiratéron. (Antonarakis et al. 2014)

Le réarrangement de l'oncogène ERG, a aussi été proposé comme mécanisme de résistance, mais reste controversé. (Attard et al. 2009)

## **I.7.B) Résultats des essais cliniques dans les cancers du sein moléculaires apocrines**

### **I.7.B.a) Etude du groupe Nord Américain avec le bicalutamide**

Le bicalutamide provoque la mort cellulaire dans la lignée moléculaire apocrine MDA-MB-453, avec une réduction de signalisation de Her3 et pAKT. (Ni et al. 2011)

Le Translational Breast Cancer Research Consortium a donc mené un essai de phase II, multicentrique, monobras, évaluant l'activité anti-tumorale du bicalutamide chez des patientes ayant un cancer du sein avancé ER-/PgR AR+. Le seuil de positivité choisi pour AR était >10%, testé sur la tumeur primitive ou un site métastatique, et relu en centralisé. L'objectif primaire était le taux de bénéfice clinique (CBR) à 6 mois, défini par le nombre de patientes en réponse complète (CR), réponse partielle (PR) ou maladie stable (SD). Les objectifs secondaires incluaient la survie sans progression et la toxicité.

Sur 424 patientes avec un cancer ER-/PgR- screenées, 51 soit 12% étaient AR+.

Pour les 26 patientes évaluables (dont 1 patiente AR+/Her2+), le taux de bénéfice clinique du bicalutamide à 6 mois était de 19% (95% CI : 7-39%), 5 patientes ayant eu une stabilité tumorale pendant plus de 6 mois. Il n'y avait pas de réponse partielle ou complète. Une patiente était toujours stable après 57 cycles. La survie sans progression médiane était de 12 semaines (95% CI, 11- 22 semaines).

Le bicalutamide était bien supporté : les principaux effets reportés étaient l'asthénie, les oedèmes, les bouffées de chaleur, et l'élévation des transaminases, et il n'y eut aucun effet secondaire de grade 4 ou 5.

Au total, cet essai constitue une preuve de concept, avec un bénéfice du bicalutamide convaincant, comparable à ceux obtenus avec des chimiothérapies en dernière ligne pour des tumeurs du sein triple négatives. (Gucalp et al. 2013)

Par ailleurs, Arce-Salinas et al ont publié en 2014 le cas d'une patiente ayant une tumeur du sein métastatique axillaire et cutanée, ER-/PgR-/Her2-, avec une positivité des AR à 100%, en progression après 6 lignes de chimiothérapie. La patiente était en réponse complète après 4 mois de traitement par bicalutamide, et toujours sans rechute après 1 an de traitement. Il s'agissait du 1<sup>er</sup> cas rapporté de réponse clinique sous anti-androgène. (Arce-Salinas et al. 2014)

### **I.7.B.b) Etude internationale avec l'enzalutamide**

L'enzalutamide inhibe la prolifération induite par la DHT dans des xénogreffes issues de la lignée MDA-MB-453, avec une augmentation de l'apoptose. (Cochrane et al. 2014)

Traina et al ont mené, sur ces données pré-cliniques, une étude de phase 2, monobras, chez les patientes ayant une tumeur du sein triple négative avancée.

Les patientes étaient pré-screenées pour la positivité du AR définie par une expression > 0% en IHC. 404 patientes ont été screenées, dont 79% avaient une expression de AR > 0%, et 55%, une expression de AR ≥10%. 118 patientes ont été ensuite incluses dans l'essai, dont plus de 50% étaient en 1e ou 2e ligne thérapeutique. Pour les patientes ayant des AR > 0%, le taux de CBR à 16 semaines était de 25%, celui à 24 semaines était de 20%, la PFS était de 12,6%. Pour les 75 patientes ayant des AR ≥10%, le CBR était même amélioré à 35% à 16 semaines et 29% à 24 semaines, et la PFS était de 14,7 semaines. Il y a eu 2 réponses complètes et 5 réponses partielles. Les effets secondaires rapportés ont été l'asthénie (de grade 3 dans 5% des cas), les nausées, l'anorexie et les bouffées de chaleur. (Traina et al. 2015; Rampurwala, Wisinski, and O'Regan 2016)

Dans cette étude le pourcentage de cellules tumorales exprimant AR dans les tumeurs n'était pas suffisamment prédictif de l'efficacité de l'Enzalutamide. Traina et al ont donc réalisé un séquençage de l'ARN de 175 tissus mammaires, 122 de biopsies de patientes sous Enzalutamide, 55 issus de patientes non traitées. Par l'analyse des profils d'expression des répondeurs et non répondeurs, ils ont mis au point une signature génique, Predict-AR, permettant de prédire la sensibilité à l'Enzalutamide. Les patientes classées par le Predict-AR comme répondeuses avaient un CBR de 36% à 24 semaines, versus 6% pour les patientes classées non répondeuses. 50% des patientes de l'étude de phase 2 étaient classées comme

répondeuses. Ce test reste à valider sur des séries plus larges, et son caractère prédictif ou pronostic n'est pas éclairci, mais il ouvre des perspectives intéressantes. (Parker et al. 2015)

Un essai de phase III évaluant l'enzalutamide en association au paclitaxel versus paclitaxel seul, chez des patientes ayant une tumeur triple négative AR+ métastatique, est en cours de préparation.

In vitro, l'enzalutamide a une action synergique avec le trastuzumab pour l'inhibition de la lignée MDA-MB-453. Sur ces données, Trudeau et al ont débuté une essai de phase 2, chez des patientes ayant une tumeur ER-/PgR-/Her2+/AR+, en situation localement avancé ou métastatique, ayant déjà reçu 1 à 4 lignes de traitement anti-Her2. Elles recevront Enzalutamide 160 mg par jour et Trastuzumab 6mg/kg/21j. Le critère principal d'évaluation est le taux de patientes ayant un CBR à 24 semaines. Cet essai est en cours d'inclusion. (Trudeau et al. 2015)

### **I.7.B.c) Etude du groupe français UCBG avec l'acétate d'abiratérone**

L'acétate d'abiratérone a été précédemment testé dans une étude de phase 1 menée chez des patientes atteintes de tumeurs ER+ résistantes aux inhibiteurs de l'aromatase. En association à la prednisone, il était évalué versus abiratérone et une combinaison des deux. L'essai n'a montré aucune différence entre les 3 bras pour son objectif primaire, la survie sans progression. (O'Shaughnessy et al. 2014)

Bonnefoi et al ont mené l'étude AMA : il s'agissait d'une étude de phase II monobras, multicentrique incluant des patientes ayant des tumeurs du sein métastatiques ou localement avancées ER-/PgR-/Her2-/AR+, le seuil choisi pour la positivité des AR étant  $\geq 10\%$ . Le nombre de traitements antérieurs n'était pas limité. Le critère de jugement principal était le taux de CBR à 6 mois. Les patientes étaient traitées par abiratérone 1000mg/j et prednisone 5mg/j.

34 patientes ont été incluses dans l'étude de juillet 2013 à décembre 2014. 30 étaient évaluable pour l'objectif primaire.

Le taux de CBR à 6 mois était de 20% (95% CI 7,7%- 38,6%), avec 1 réponse complète et 5 maladies stables. La PFS médiane était de 2,8 mois. Les effets secondaires principaux étaient

l'asthénie, l'hypertension, l'hypokaliémie, les nausées. La majorité de ces effets était de grade 1 ou 2. (H. Bonnefoi et al. 2016)

### **I.7.C) Perspectives thérapeutiques**

Dans le modèle des carcinomes prostatiques, les tumeurs hormono-sensibles progressent inévitablement vers une résistance à la castration, par plusieurs mécanismes : hyperexpression ou amplification de AR, augmentation de la synthèse intratumorale d'androgènes, expression de variants aberrants d'AR (suite à une mutation ou une variation d'épissage).

De même, des résistances aux anti-estrogènes apparaissent sous hormonothérapie dans les cancers du sein ER+

On peut donc craindre l'apparition de ce même type de résistances dans les tumeurs moléculaires apocrines, et de nombreuses études sont en cours pour les contourner.

#### **I.7.C.a) Prochaine génération des anti-androgènes ciblant le LBD**

L'ARN-509 est un antagoniste de AR de 2<sup>e</sup> génération, avec un mécanisme d'action similaire à celui de l'enzalutamide. Cependant les données pré-cliniques retrouvent une moindre concentration intra-cérébrale à l'état d'équilibre, suggérant un effet pro-convulsivant diminué. (Clegg et al. 2012). La phase 1-2 dans les cancers prostatique métastatique montre des signaux d'efficacité, et aucune convulsion n'a été observée chez les patients traités. (Rathkopf et al. 2013) L'étude de phase III SPARTAN, randomisée contre placebo, en cours d'inclusion, évalue l'intérêt de l'ARN-509 pour retarder l'apparition de métastases chez les patients porteurs d'un CRPC non métastatique.

L'ODM-201 se lie au AR avec une meilleure affinité que l'enzalutamide, et comme lui, bloque sa translocation nucléaire. Il n'entraîne pas d'effet agoniste en cas de surexpression de AR, et ne passe pas la barrière hémato-encéphalique. (Moilanen et al. 2015)

### **I.7.C.b) Inhibiteurs de la biosynthèse des androgènes**

Le TOK-001 (galeterone) est un analogue stéroïdien semi-synthétique qui inhibe la prolifération des cellules tumorales prostatiques, en inhibant la CYP17 Lyase, en antagonisant l'AR sauvage et l'AR muté et en accélérant sa dégradation. (Njar and Brodie 2015)

L'essai de phase I-II ARMOR, a retrouvé une bonne tolérance, dans les tumeurs prostatiques métastatiques, avec 94% d'effets secondaires de grade 1-2, à type de nausées, diarrhées, fatigue. Il a montré une décroissance rapide du taux de PSA, y compris chez des patients pré-traités par Abiratérone. (Taplin, Montgomery, and Group 2014)

Le TAK-700 est un inhibiteur de la synthèse des androgènes ayant une forte affinité pour la CYP17,20-lyase. Son développement a été considérablement freiné suite à la parution de 2 études de phase III négatives, chez des patients ayant un CRPC métastatique chimio-naïf, ou chimio-exposé.

Le VT-464 est un inhibiteur de la CYP17,20-lyase, avec une affinité beaucoup plus faible pour la CYP17-hydroxylase, et ne nécessitant donc pas d'administration concomitante de corticoïdes. Les cellules traitées par VT-464 ont des taux de DHT et testostérone intracellulaire moins élevés que sous abiratérone, suggérant une meilleure inhibition de cette voie. (Toren et al. 2015)

### **I.7.C.c) Inhibiteur des protéines chaperons**

Les « Heat shock proteines » sont des protéines de stress fonctionnant comme des protéines chaperons, et qui jouent un grand rôle dans les voies de signalisation hormonales. La protéine Hsp90 est nécessaire au repliement de AR, sa circulation, son activation, et sa transcription. Elle maintient la haute affinité de AR pour son ligand.

Le ganetespib, inhibiteur de Hsp90, a montré son efficacité dans plusieurs lignées cellulaires de tumeurs mammaires, avec les meilleures réponses dans des lignées et xénogreffes Her2+. Des essais de phase 2 sont en cours dans cette population. (Friedland et al. 2014)

### **I.7.C.d) Double inhibition de AR et d'autres voies de signalisation**

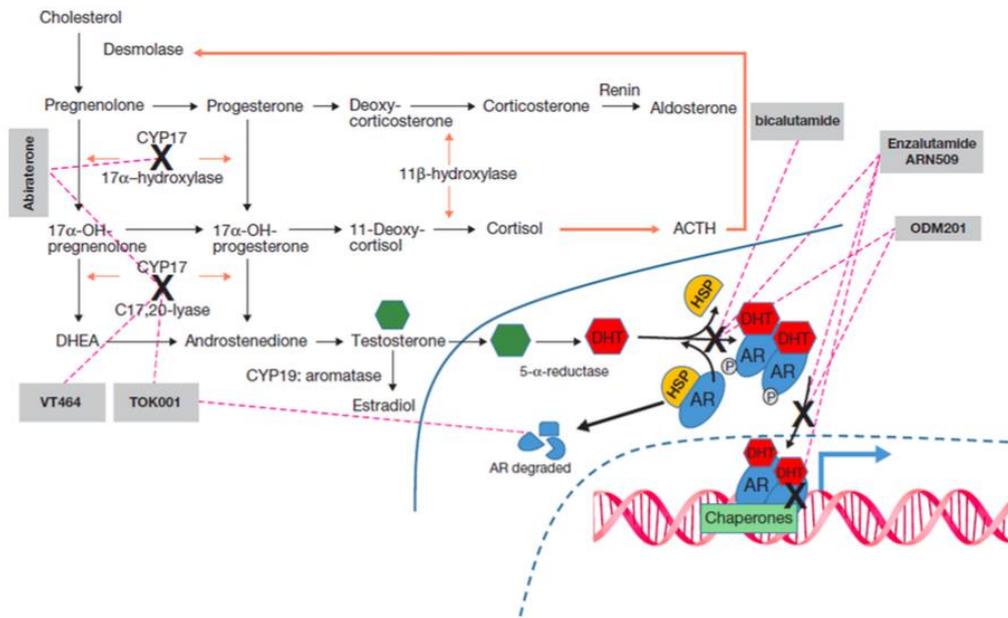
Plusieurs voies de signalisation interviennent dans la cascade de signalisation induite par AR. Beaucoup font l'hypothèse que les combinaisons d'un anti-androgène, et d'inhibiteurs de PI3K/AKT, MAPK, p53, et inhibiteurs du cycle cellulaires seront supérieures à une monothérapie par anti-androgènes.

Les mutations activatrices de PI3K sont plus fréquemment retrouvées dans les tumeurs triple-négatives AR+ (40% des cas versus 4%,  $p < 0,002$ ), et souvent associées à des amplifications du locus de PI3K. (Lehmann et al. 2014) Dans les lignées cellulaires mutées, un effet synergique est retrouvé entre le bicalutamide et un inhibiteur de PI3K. Un essai de phase IB/II, combinant de l'enzalutamide et du tasisib (inhibiteur de PI3K) est en cours de recrutement. (Rampurwala, Wisinski, and O'Regan 2016)

Les « cyclin-dépendant kinases » 4 et 6, déclenchent l'entrée en cycle cellulaire, en initiant la transition de la phase G1 à la phase S. L'inhibiteur de CDK4/6 palbociclib, est approuvé aux Etats-Unis, en association au letrozole, en 1<sup>e</sup> ligne dans les tumeurs ER+ avancées. Récemment, Asghar et al ont montré que les tumeurs LAR pourraient bénéficier du palbociclib, et en particulier, que les tumeurs LAR avec mutations PI3K pourraient bénéficier d'une double ciblage du cycle cellulaire et de la voie PI3K/m TOR. (Asghar et al. 2015) Par ailleurs, dans des lignées de tumeurs prostatiques ayant la mutation F876L entraînant un switch agoniste sous anti-androgènes, les inhibiteurs de CDK4/6 antagonisent l'AR F876L et restaurent l'effet anti-androgène de l'enzalutamide. (Korpal et al. 2013)

Un essai de phase I/ II évaluant l'association bicalutamide et palbociclib dans les tumeurs triple-négatives AR+ est aussi en cours d'inclusion.

Figure 17 : Traitements ciblant la voie des androgènes, d'après (Proverbs-Singh et al. 2015)



## II) TRAVAIL ORIGINAL

### II.1) Introduction

Le cancer du sein est aujourd'hui considéré non pas comme une maladie unique, mais comme plusieurs sous-groupes de maladies qui diffèrent par leurs histoires naturelles, leurs pronostics et leurs réponses aux traitements. La classification dite intrinsèque de Perou et Sorlie, publiée en 2000, a permis de décrire cette taxonomie biologique, et de mieux comprendre l'hétérogénéité observée en clinique. (Charles M. Perou et al. 2000) Cette classification a eu un impact sur la pratique clinique. En 2011, le panel d'expert réuni à la conférence de consensus internationale de St Gallen a établi une version dite classification moléculaire simplifiée utilisant l'IHC et le FISH pour HER2. (Goldhirsch et al. 2011) Bien que la classification intrinsèque ait amélioré notre approche du cancer du sein, elle reste imparfaite: il existe un continuum, plutôt qu'un seuil exact, entre les tumeurs luminales A et B. (Loi et al. 2007); le sous-type "basal-like" est très hétérogène (Lehmann et al. 2011); et environ 50% des tumeurs avec une amplification de HER2-2 ne sont pas classées dans le sous-type "Her2-enrichi". (Cheang et al. 2009) De plus en 2005, un nouveau sous-type dénommé moléculaire apocrine a été identifié par le laboratoire du Pr Iggo, puis confirmé par d'autres équipes. (Farmer et al. 2005; Doane et al. 2006; Sanga et al. 2009)

Les tumeurs moléculaires apocrines ont un profil d'expression génique se rapprochant de celui des tumeurs luminales. En immunohistochimie, elle sont positives pour les récepteurs aux androgènes, négatives pour les récepteurs aux estrogènes. Dans un tiers des cas, ces tumeurs sont Her2 négatives en IHC et sont alors classées comme triple négatives, ce qui est peu adapté puisque ces tumeurs relativement bien différenciées ont un comportement biologique différent de celui des tumeurs basal-like. Les tumeurs moléculaires apocrines, dans les études les identifiant par leur profil d'expression, représentent 8 à 12% des tumeurs du sein. Un tiers sont Her2-négatives et deux-tiers Her2-positives. Le risque de rechute à 5 ans est d'environ 35%. (Lehmann et al. 2011; Guedj et al. 2012) Les séries immunohistochimiques retrouvent parmi les tumeurs ER- 20 à 50% de tumeurs AR+. (Agoff et al. 2003; Niemeier et al. 2010; Park et al. 2011) (R. Hu et al. 2011; Loibl et al. 2011)

Ces études sont hétérogènes, tant dans les techniques d'immunohistochimie et les seuils choisis, que pour leur durée de suivi des patientes, et les traitements reçus. L'expression IHC de AR par les tumeurs ER-, est actuellement le marqueur de substitution le plus acceptable pour identifier les tumeurs moléculaires apocrines. (Lakis et al. 2014)

Peu d'études ont analysé la chimiosensibilité des tumeurs moléculaires apocrines. Masuda et al, se basant sur une classification transcriptomique des tumeurs triple négatives, ont relevé un taux de réponse complète histologique de 10%, significativement plus faible que dans les autres sous-groupes. (Masuda et al. 2013) Dans la série immunohistochimique de Asano, avec de petits effectifs, le taux de réponse complète histologique, pour les tumeurs triple négatives, était significativement plus faible pour les tumeurs AR+, que pour les tumeurs AR-. (Asano et al. 2016) En revanche dans la série de Loibl, ces taux étaient similaires. (Loibl et al. 2011)

L'inhibition de la voie des androgènes pour ces tumeurs est une approche thérapeutique séduisante. L'essai de Gucalp a permis de faire la preuve du concept. Cet essai de phase II, réalisé chez des patientes porteuses d'une tumeur du sein avancé ER-/ PgR-/ AR+, avec un seuil de positivité des AR défini  $\geq 10\%$ , a montré un taux de bénéfice clinique de 19% à 6 mois, avec une bonne tolérance. (Gucalp et al. 2013) L'Enzalutamide, anti-androgène de 2<sup>ème</sup> génération avec une meilleure affinité pour AR, a confirmé l'intérêt de cette approche. L'essai de Traina et al a, dans une population similaire (mais comprenant aussi des patientes dont les AR étaient compris entre 0 et 10%), a montré un taux de bénéfice clinique de 25% à 16 semaines, 20% à 24 semaines. Pour les patientes avec des AR  $\geq 10\%$ , ces taux étaient de 35% et 29% respectivement. Cet essai suggère ainsi un effet quantitatif de l'expression des androgènes. (Traina et al. 2015) Enfin, l'intergroupe français de recherche sur le cancer du sein a étudié l'intérêt de l'acétate d'abiratérone, un inhibiteur de la biosynthèse des androgènes. Avec un seuil d'AR défini comme  $\geq 10\%$ , chez 30 patientes, ils ont retrouvé un taux de bénéfice clinique à 6 mois de 20%. (H. Bonnefoi et al. 2016) De nombreuses études, utilisant d'autres traitements ciblant la voie des androgènes, sont actuellement en cours d'inclusion ou en projet.

L'étude EORTC/10994/ BIG 1-00 offre l'opportunité d'approfondir notre connaissance de ce sous-type moléculaire. (Hervé Bonnefoi et al. 2011) Cette étude avait pour objectif de tester de façon prospective l'hypothèse de la résistance des tumeurs ayant une mutation TP53 aux anthracyclines, et de leur sensibilité aux taxanes. Cette hypothèse n'a pas été confirmée. Les biopsies à l'aiguille fine réalisées au diagnostic, avant la chimiothérapie néoadjuvante, de 1123 patientes ont été centralisées à Bordeaux. Elles ont été incluses dans un Tissue Micro-Array (TMA) permettant l'évaluation de plusieurs marqueurs immunohistochimiques, dont ER, PgR, Her2, Ki67 et AR. Dans l'étude que nous rapportons, nous utiliserons l'expression de AR en IHC comme marqueur de substitution du sous-type moléculaire apocrine. Nous subdiviserons ces tumeurs moléculaires apocrines en 2 sous-groupes, selon leur statut Her2. Ce travail aura pour but d'analyser la fréquence, le taux de réponse complète histologique et la survie des tumeurs moléculaires apocrines. Ces résultats seront mis en perspective avec les résultats des autres sous-types tumoraux.

## **II.2) Patients et méthodes**

### **II.2.A) Design de l'étude, critères d'éligibilité et traitements**

Les patientes éligibles dans l'étude EORTC 10994/BIG 1-00 étaient âgées de moins de 71 ans, présentaient un carcinome mammaire invasif prouvé histologiquement et pouvaient recevoir une chimiothérapie ( Score OMS 0 ou 1, fonction rénale normale, bilans hépatiques, cardiaques et hématologiques normaux). Elles ne devaient présenter aucun antécédent de cancer ou maladie non contrôlée, n'avoir eu aucun traitement antérieur par chimiothérapie ou radiothérapie, et ne pas être en cours de grossesse ou d'allaitement. Les patientes présentant une tumeur de type T1 N0-N1, ayant des troubles psychiatriques rendant le consentement non valide, un cancer du sein bilatéral ou de sous-type spécial, et les patientes ayant retiré leur consentement étaient exclues de l'étude. Elles devaient être atteintes d'un cancer de stade initial, correspondant à :

- soit une tumeur volumineuse (cT2- T3) restant opérable
- soit une tumeur localement avancée (stade initial cT4a, b, c, quel que soit l'envahissement ganglionnaire, ou avec un envahissement ganglionnaire clinique classé cN2 ou cN3, quel que soit la taille tumorale)
- soit une tumeur inflammatoire (T4d).

Au total, 1856 patientes ont été incluses et randomisées, selon un ratio 1 :1, dans deux bras de chimiothérapie néo-adjuvante :

- un bras expérimental avec taxanes, dans lequel les patientes recevaient 3 cycles de Docetaxel à la dose de 100mg/m<sup>2</sup> tous les 21 jours, puis 3 cycles d'Epirubicine 90mg/m<sup>2</sup> associé à du Docetaxel 75mg/m<sup>3</sup> tous les 21 jours (schéma T-ET)
- un bras standard à base d'antracyclines sans taxanes, dans lequel étaient administrés 6 cycles de FEC 100 (Fluorouracile 500mg/m<sup>2</sup>, Epirubicine 100mg/m<sup>2</sup> et Cyclophosphamide 500mg/m<sup>2</sup>) tous les 21 jours, ou 6 cycles de « FEC adapté » pour les patientes du groupe de recherche suédois, comme précisé dans la publication. (Hervé Bonnefoi et al. 2011)

Les patientes étaient ensuite traitées par chirurgie, conservatrice ou par mastectomie, le choix étant laissé à l'investigateur selon les pratiques de chaque centre, en respectant les recommandations données dans le protocole de l'étude. De la même façon, le protocole

détaillait les recommandations pour la radiothérapie adjuvante. Les patientes ayant une tumeur exprimant des récepteurs aux estrogènes ou à la progestérone devaient recevoir un traitement adjuvant par Tamoxifène pendant 5 ans. L'utilisation d'inhibiteurs de l'aromatase était autorisée, conformément aux recommandations locales de chaque centre. En cas de tumeur surexprimant Her2, les patientes étaient autorisées à participer aux essais testant le trastuzumab, puis à le recevoir dans le cadre de leur traitement adjuvant, dès lors que ce médicament fut enregistré dans cette indication. Aucune patiente n'a reçu de trastuzumab en néo-adjuvant.

L'essai a été enregistré sous le numéro NCT00017095, et approuvé par les comités d'éthique locaux et nationaux, pour tous les centres participant à l'essai. Chaque patiente avait signé, avant l'inclusion, un consentement écrit éclairé pour la participation à l'essai et l'utilisation des échantillons de sa tumeur.

Pour la sous-étude que nous présentons, un sous-groupe de cette population de 1856 patientes a été défini, selon les critères suivants :

- 1) Patientes éligibles pour l'essai EORTC 10994
- 2) Patientes dont les biopsies diagnostiques ont été centralisé dans le TMA ancillaire, à Bordeaux, avec un tissu tumoral suffisant pour l'analyse
- 3) Patientes ayant reçu au moins une cure de chimiothérapie néo-adjuvante, et n'ayant pas reçu de radiothérapie avant la chirurgie.

## **II.2.B) Analyse histologique**

### **II.2.B.a) Conditions de l'analyse histologique**

Le type histologique et le grade de chaque tumeur étaient définis dans chaque centre. Les données étaient collectées avec une fiche de recueil de données. La réponse histologique était évaluée par le pathologiste de chaque centre après chimiothérapie néo-adjuvante, sur la pièce opératoire.

La réponse complète histologique (RCH) était définie comme l'absence de maladie résiduelle invasive (à l'exception de quelques cellules tumorales isolées), avec ou sans carcinome in situ résiduel ; et sans envahissement ganglionnaire axillaire (ypT0/is ; ypN0)

Il n'y avait pas de relecture histologique centralisée pour le grade et le type histologique au diagnostic, ni pour la réponse histologique sur la pièce opératoire.

### **II.2.B.b) Analyse du statut TP53**

Le statut TP 53 était défini grâce à un test fonctionnel sur levures, décrit dans la publication de Bonnefoi et al. (H. Bonnefoi et al. 2002) Ce test ne pouvait être réalisé que si les biopsies contenaient  $\geq 20\%$  de cellules tumorales.

### **II.2.B.c) La construction du Tissue Micro-Array**

Les biopsies diagnostiques prélevées dans chaque centre ont été envoyées à l'Institut Bergonié, à Bordeaux. Après la fabrication des lames, avec une coloration Hématoxyline-Eosine, les lames étaient relues et les régions représentatives de la tumeur étaient prélevées pour la construction du TMA. Pour chaque cas, 3 carottes d'un diamètre de 0,6 mm étaient prélevées. Le TMA a été réalisé par Valérie Velasco. La lecture de chaque lame a été réalisée par un seul pathologiste, Gaetan Mac Grogan.

### **II.2.B.d) Méthode et interprétation immunohistochimiques**

Pour notre étude, nous avons redéfini le phénotype tumoral concernant ER, PgR, le statut Her2 et Ki67 sur le TMA. Nous avons utilisé l'automate Ventana Benchmark Ultra. Le prétraitement était de type ultra CC1 standart. Le temps d'incubation était de 32 minutes pour les marqueurs ER, PgR, AR et Ki67 (16 minutes pour Her2). Des témoins externes ont été ajoutés.

Pour le récepteur aux estrogènes  $\alpha$ , nous avons utilisé le clone SP1 prédilué. Ventana, pour le récepteur à la progestérone, le clone 1E2 prédilué Ventana, a été utilisé. ER et PgR étaient cotés positifs lorsque le marquage était positif pour au moins 10% des cellules tumorales. Pour le Ki67, le clone 30-9 prédilué Ventana a été utilisé. Le seuil choisi pour la

positivité est  $\geq 14\%$  des cellules marquées, comme déterminé dans la publication de Cheang et al. (Cheang et al. 2009)

La détection IHC de AR était réalisée avec le clone SP107 prédilué, Ventana. Le seuil de positivité choisi est  $\geq 10\%$  de noyaux de cellules tumorales marquées, comme dans l'étude de Gucalp. (Gucalp et al. 2013)

Pour le marquage Her2, le clone 4B5 prédilué a été utilisé. Selon les recommandations de l'ASCO/ CAP 2013 (Wolff et al. 2013), une méthode d'hybridation in situ est indiquée pour les tumeurs dont le statut Her2+ est équivoque en IHC, c'est à dire avec un marquage 2+.

Nous avons réalisé un test FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation) sur chaque tumeur (et non uniquement sur les cas 2+). Pour les cas de discordance entre les 2 techniques, nous considérons qu'un résultat positif pour l'une des 2 techniques signifie un résultat positif. Le statut Her2, en fonction des résultats IHC et FISH, est ainsi résumé dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Définition du statut Her2

FISH/ IHC	0+/1+	2+	3+	NI
Nombre de copies Her2 <6	Négatif	Négatif	Positif	Négatif
Nombre de copies Her2 $\geq 6$	Positif	Positif	Positif	Positif
Non interprétable (NI)	Négatif	NI	Positif	NI

### II.2.B.e) Définition des différents sous-types moléculaires

De nombreuses études, et notamment la conférence de consensus de St Gallen de 2011, ont utilisé le profil immunohistochimique des tumeurs comme marqueurs de substitution de leur sous-type intrinsèque. (Goldhirsch et al. 2011) Nous avons défini ainsi 6 sous-types tumoraux, selon leur profil immunohistochimique, comprenant un sous-type moléculaire apocrine.

Ces 6 sous types sont décrits dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Classification des sous-types de cancer du sein

Sous- type	AR	ER/PgR	HER2	Ki67
Moléculaire apocrine (MA)	Positif	Négatifs	Tout	Tout
Quadruple négatives	Négatif	Négatifs	Négatif	Tout
HER2 positif Non-luminal, non-MA	Négatif	Négatifs	Positif	Tout
Luminal B (HER2 positif)	Tout	ER et/ou PgR positif	Positif	Tout
Luminal B (HER2 négatif)	Tout	ER et/ou PgR positif	Négatif	Elevé
Luminal A	Tout	ER et/ou PgR positif	Négatif	Faible

Nous subdiviserons ensuite le sous-type moléculaire apocrine en 2 sous-groupes, selon le statut Her2 :

Tableau 3 : Sous-groupes de tumeurs moléculaires apocrines selon le statut Her2

Sous-type	Subdivision	AR	ER/PgR	HER2	Ki67
Moléculaire apocrine (MA)	MA HER2+	Positive	Négatifs	HER2+	Tout
	MA HER2-			HER2-	

### II.2.C) Objectifs et critères d'évaluation

Les objectifs de l'étude étaient de décrire le taux de réponse complète histologique et les données de survie : intervalle sans rechute (RFI), intervalle sans rechute à distance (DRFI) et survie globale (OS) dans le sous-type moléculaire apocrine et ses 2 sous-groupes selon le statut Her2.

Le taux de réponse complète et les paramètres de survie ont également été étudiés dans les autres sous-types.

Critères de jugement:

1. Le taux de réponse complète histologique, défini par l'absence de maladie résiduelle invasive (à l'exception de quelques cellules tumorales isolées), avec ou sans carcinome in situ résiduel ; et sans envahissement ganglionnaire axillaire (ypT0/is ; ypN0).

2. Les critères de survie sont définis selon les recommandations du système international STEEP. (Hudis et al. 2007)

L'intervalle sans rechute (RFI) est défini comme le temps depuis la randomisation jusqu'à progression sous chimiothérapie, ou rechute locale homolatérale, ou rechute régionale (paroi thoracique, ganglions axillaires, mammaires internes ou sus et sous claviculaire), rechute à distance ou décès du au cancer ou aux toxicités du traitement. Le caractère invasif ou non de la récurrence n'était pas documenté dans la base de données.

L'intervalle sans rechute à distance (DRFI) est défini comme le temps depuis la randomisation jusqu'à rechute à distance ou décès du au cancer.

La survie globale est défini comme le temps depuis la randomisation jusqu'au décès quel qu'en soit la cause.

Dans l'essai EORTC 10994, la première rechute locorégionale et la première rechute à distance étaient enregistrées. Lorsque ces événements étaient diagnostiqués à moins de 2 mois d'intervalle, ils étaient considérés comme simultanés. Dans ce cas, le site de rechute enregistré était celui dont le pronostic était le plus mauvais.

Les patientes qui n'avaient pas présenté d'événements pendant le suivi étaient censurées à la date de leur dernière visite de suivi.

Les cancers du sein contralatéraux et les seconds cancers (non mammaires) n'étaient pas considérés comme des événements.

## **II.2.D) Analyse statistique**

Pour notre sous-étude, nous avons défini prospectivement les méthodes d'analyse statistique.

Les chances d'obtenir une réponse complète histologique étaient analysées avec un modèle de régression logistique. Les rapports de chance (odds ratio- OR) et leurs intervalles de confiance à 95%, et leurs p-value étaient aussi calculés (méthode Wald).

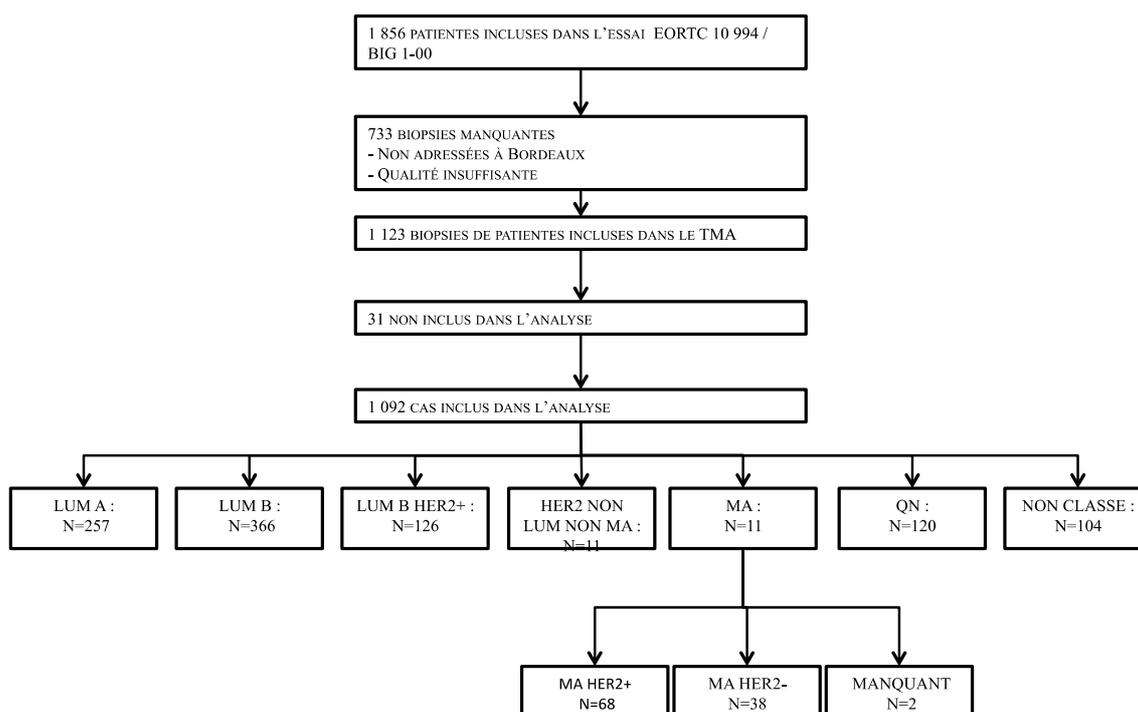
Les critères de temps jusqu'à événement étaient analysés par méthode de Kaplan Meier. Les p-values étaient calculées avec des tests de log rank. Les rapports de risque (hazard ratio- HR), ainsi que leurs intervalles de confiance à 95%, étaient estimés grâce à un modèle de régression de Cox.

L'analyse statistique était réalisée à l'EORTC, à Bruxelles.

## II.3) Résultats

Du 25 avril 2001 au 20 novembre 2006, 1856 patientes ont été randomisées dans l'essai EORTC 10994/ BIG 1-00. 928 ont été randomisées dans le bras FEC, et 928 dans le bras T-ET. Ces patientes provenaient de 42 centres, répartis dans 9 pays d'Europe. Sur les 1856 patientes randomisées dans l'essai EORTC 10 994/ BIG 1-00, 1092 ont été incluses dans notre analyse. Les causes d'inéligibilité sont décrites dans le diagramme de flux suivant. Les caractéristiques des patientes incluses dans notre étude étaient similaires à celles qui n'ont pas été incluses. La durée médiane de suivi était de 57 mois.

Figure 1 : Diagramme de flux



## II.3.A) Tumeurs moléculaires apocrines

### II.3.A.a) Fréquence, caractéristiques et traitements reçus

Parmi les 1092 patientes incluses dans notre étude, nous avons retrouvé 108 patientes dont les tumeurs étaient de phénotype moléculaire apocrine, soit 9,9% des cas. Les caractéristiques initiales des patientes, et les traitements reçus sont reportées dans le tableau 1. L'âge médian, pour les tumeurs moléculaires apocrines est 53,9 ans. Le Ki67 est élevé dans 80,6% des cas, faible dans 18,5% des cas. Corroborant ce résultat, les tumeurs moléculaires apocrines sont de grade 3 dans 47,2% des cas. 38 de ces tumeurs sont Her2- soit 35,2%, 68 sont Her2+ soit 63%. Le statut Her2 est non-classé pour 2 cas. Le statut P53 est de type sauvage dans 21,3% des cas, muté dans 54,6% des cas, et inconnu dans 24,1% des cas.

Tableau 4

	Tumeurs moléculaires apocrines : Caractéristiques et traitements reçus			
	Manquant	MA	MA	Total
	(N=2)	HER2- (N=38)	HER2+ (N=68)	(N=108)
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<b>Age</b>				
<= 40	0 (0.0)	5 (13.2)	11 (16.2)	16 (14.8)
40<=50	0 (0.0)	7 (18.4)	18 (26.5)	25 (23.1)
50<=70	2 (100.0)	26 (68.4)	39 (57.4)	67 (62.0)
médian	60.1	55.5	52.2	53.9
<b>Statut ménopausique</b>				
Préménopausée	1 (50.0)	9 (23.7)	32 (47.1)	42 (38.9)
Ménopausée	1 (50.0)	29 (76.3)	36 (52.9)	66 (61.1)
<b>Taille tumorale</b>				
T1	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.5)	1 (0.9)
T2	0 (0.0)	22 (57.9)	33 (48.5)	55 (50.9)
T3	1 (50.0)	9 (23.7)	16 (23.5)	26 (24.1)
T4	1 (50.0)	7 (18.4)	18 (26.5)	26 (24.1)
<b>Envahissement ganglionnaire</b>				

<b>Tumeurs moléculaires apocrines : Caractéristiques et traitements reçus</b>				
	<b>Manquant (N=2)</b>	<b>MA HER2- (N=38)</b>	<b>MA HER2+ (N=68)</b>	<b>Total (N=108)</b>
	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>N (%)</b>
<b>N0</b>	1 (50.0)	17 (44.7)	23 (33.8)	41 (38.0)
<b>N1</b>	1 (50.0)	19 (50.0)	38 (55.9)	58 (53.7)
<b>N2</b>	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (10.3)	7 (6.5)
<b>N3</b>	0 (0.0)	2 (5.3)	0 (0.0)	2 (1.9)
<b>Type histologique</b>				
<b>Canalaire</b>	2 (100.0)	33 (86.8)	64 (94.1)	99 (91.7)
<b>Lobulaire</b>	0 (0.0)	3 (7.9)	1 (1.5)	4 (3.7)
<b>Autre</b>	0 (0.0)	2 (5.3)	3 (4.4)	5 (4.6)
<b>Grade histologique</b>				
<b>Grade 1</b>	0 (0.0)	2 (5.3)	0 (0.0)	2 (1.9)
<b>Grade 2</b>	0 (0.0)	13 (34.2)	27 (39.7)	40 (37.0)
<b>Grade 3</b>	2 (100.0)	17 (44.7)	32 (47.1)	51 (47.2)
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	6 (15.8)	9 (13.2)	15 (13.9)
<b>HER2</b>				
<b>Négatif</b>	0 (0.0)	38 (100.0)	0 (0.0)	38 (35.2)
<b>Positif</b>	0 (0.0)	0 (0.0)	68 (100.0)	68 (63.0)
<b>équivoque</b>	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.9)
<b>Manquant</b>	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.9)
<b>KI67</b>				
<b>Faible</b>	0 (0.0)	9 (23.7)	11 (16.2)	20 (18.5)
<b>Elevé</b>	2 (100.0)	29 (76.3)	56 (82.4)	87 (80.6)
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.5)	1 (0.9)
<b>Statut P53</b>				
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	8 (21.1)	18 (26.5)	26 (24.1)
<b>Sauvage</b>	0 (0.0)	8 (21.1)	15 (22.1)	23 (21.3)
<b>Muté</b>	2 (100.0)	22 (57.9)	35 (51.5)	59 (54.6)
<b>Type de chirurgie</b>				
<b>Tumorectomie/ quadrantectomie</b>	0 (0.0)	19 (50.0)	25 (36.8)	44 (40.7)
<b>mastectomie</b>	2 (100.0)	17 (44.7)	42 (61.8)	61 (56.5)
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	2 (5.3)	2(5,3)	4 (3,7)
<b>Bras de randomisation</b>				

<b>Tumeurs moléculaires apocrines : Caractéristiques et traitements reçus</b>				
	<b>Manquant (N=2) N (%)</b>	<b>MA HER2- (N=38) N (%)</b>	<b>MA HER2+ (N=68) N (%)</b>	<b>Total (N=108) N (%)</b>
<b>FEC</b>	0 (0.0)	19 (50.0)	32 (47.1)	51 (47.2)
<b>T-ET</b>	2 (100.0)	19 (50.0)	36 (52.9)	57 (52.8)
<b>Hormonothérapie adjuvante</b>				
<b>Non</b>	2 (100.0)	31 (81.6)	58 (85.3)	91 (84.3)
<b>Oui</b>	0 (0.0)	5 (13.2)	8 (11.8)	13 (12.0)
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	2 (5.3)	2 (2.9)	4 (3.7)
<b>Trastuzumab adjuvant</b>				
<b>Non</b>	2 (100.0)	19 (50.0)	47 (69.1)	68 (63.0)
<b>Oui</b>	0 (0.0)	2 (5.3)	18 (26.5)	20 (18.5)
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	17 (44.7)	3 (4.4)	20 (18.5)

### II.3.A.b) Réponse complète histologique

Sur les 108 tumeurs moléculaires apocrines de cette étude, nous n'avons pas pu évaluer la réponse histologique dans 4 cas (patientes n'ayant pas été opérées). Une réponse complète histologique a été observée dans 36 de ces 104 cas, soit un taux de 34,6%. Les taux de RCH étaient similaires dans le sous-groupe Her2- et le sous-groupe Her2+, avec un Odds ratio de ce taux pour les tumeurs Her2+ versus tumeurs Her2- de 0,83 (95%CI : 0,35- 1,94 ; p=0,661) Rappelons qu'aucune patiente n'a reçu de trastuzumab en néo-adjuvant.

Tableau 5 : taux de réponse histologique selon le sous-type

	Taux de pCR selon le sous-type				
	Patients N	Patients évaluables N	pCR (patients évaluables) N	Pas de pCR (patients évaluables) N	Taux de pCR (%)
LumA	257	2	19	236	7.45
LumB-HER2-	366	5	46	315	12.74
LumBHER2+	126	3	34	89	27.64
HER2+nonLum,nonMA	11	0	4	7	36.36
Moléculaireapocrine					
toutstatutHer2	108	4	36	68	34.61
HER2négatif	38	2	13	23	36.11
HER2positif	68	2	21	45	31.81
Quadruple négatives	120	11	36	73	33.02

### **II.3.A.c) Résultats de survie**

Les courbes pour l'intervalle sans rechute, l'intervalle sans rechute à distance, et la survie globale sont reportées dans les figures 1, 2, et 3. Le pourcentage de patientes du sous-type moléculaire apocrine qui sont indemnes de toute rechute à 5 ans est de 55,5%. Dans les sous-groupes Her2+ et Her2-, il est respectivement de 48,2% et 65,7%.

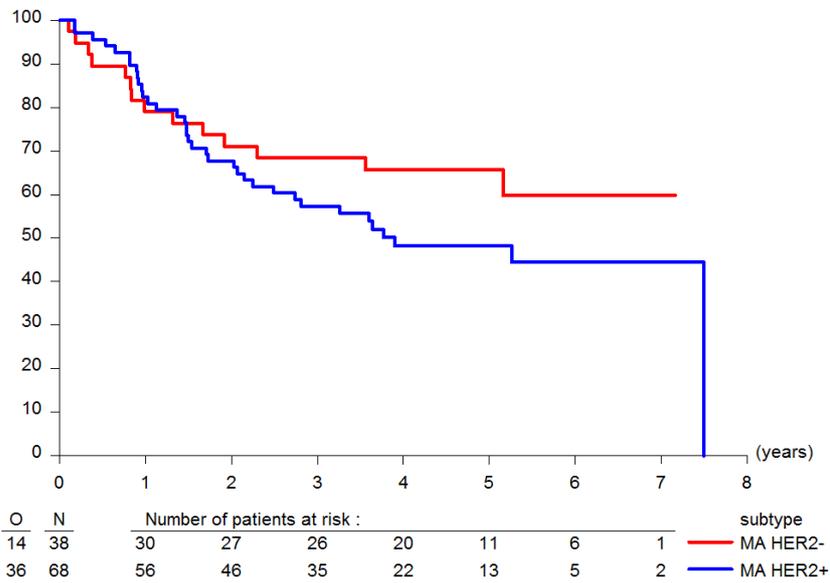
Les taux à 5 ans de patientes sans rechute à distance dans le sous-type moléculaire apocrine, et ses subdivisions Her2+ et Her2-, sont respectivement de 63,9%, 58,9% et 70,7%.

Les intervalles libres sans rechute, et intervalles libres sans rechute à distance, sont similaires dans les 2 sous-groupes, et ne sont donc pas en faveur d'une prédominance de rechute locale.

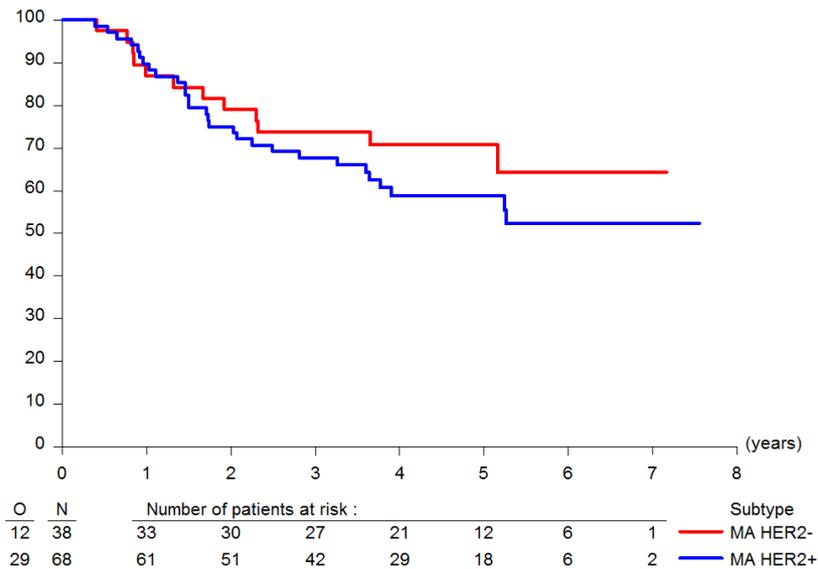
Le pourcentage de patientes survivantes à 5 ans, dans le sous-type moléculaire apocrine et les sous-groupes Her2+ et Her2- sont respectivement de 74,5%, 76,4% et 69,6%.

A noter que dans le sous-groupe Her2+, 18/68 patientes, soit 26,5%, ont reçu du trastuzumab en phase adjuvante. Il n'y a pas de différence statistiquement significative pour les données de survie entre les 2 sous-groupes moléculaire apocrines Her2+ et Her2-.

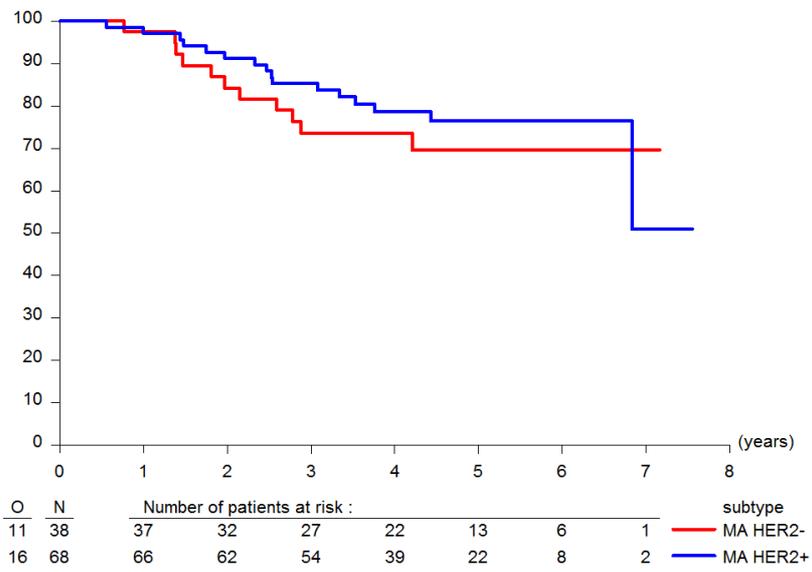
**Figure 2:** Intervalle sans rechute dans les sous-groupes moléculaire apocrines Her2+ et Her2-



**Figure 3:** Intervalle sans rechute à distance dans les 2 sous-groupes moléculaires apocrines Her2+ et Her2-



**Figure 4 : Survie globale dans les 2 sous-groupes moléculaires apocrines Her2+ et Her2-**



## **II.3.B) Autres sous-types et comparaison avec le sous-type moléculaire apocrine**

### **II.3.B.a) Fréquence, caractéristiques et traitements reçus**

Les caractéristiques de référence des patientes et les traitements reçus sont reportés dans l'annexe 3. Les patientes atteintes d'une tumeur moléculaire apocrine étaient statistiquement plus âgées que les autres patientes, avec un âge médian de 53,9 ans versus 49 ans. On ne retrouve pas de différence significative pour les autres facteurs. Le pourcentage de patientes ayant reçu du trastuzumab étaient similaires dans les sous-types Luminal B Her2+, Her2+ non luminal non moléculaire apocrine, et dans le sous-groupe moléculaire apocrine Her2+.

### **II.3.B.b) Réponse histologique et résultats de survie**

Le taux de réponse histologique complète varie significativement selon les sous-types. Les tumeurs lumineuses A sont celles ayant le taux de RCH le plus bas (7,45%), et les tumeurs quadruple négatives sont celles ayant le taux le plus élevé (33,02%) Les taux de RCH sont reportés dans le tableau 5.

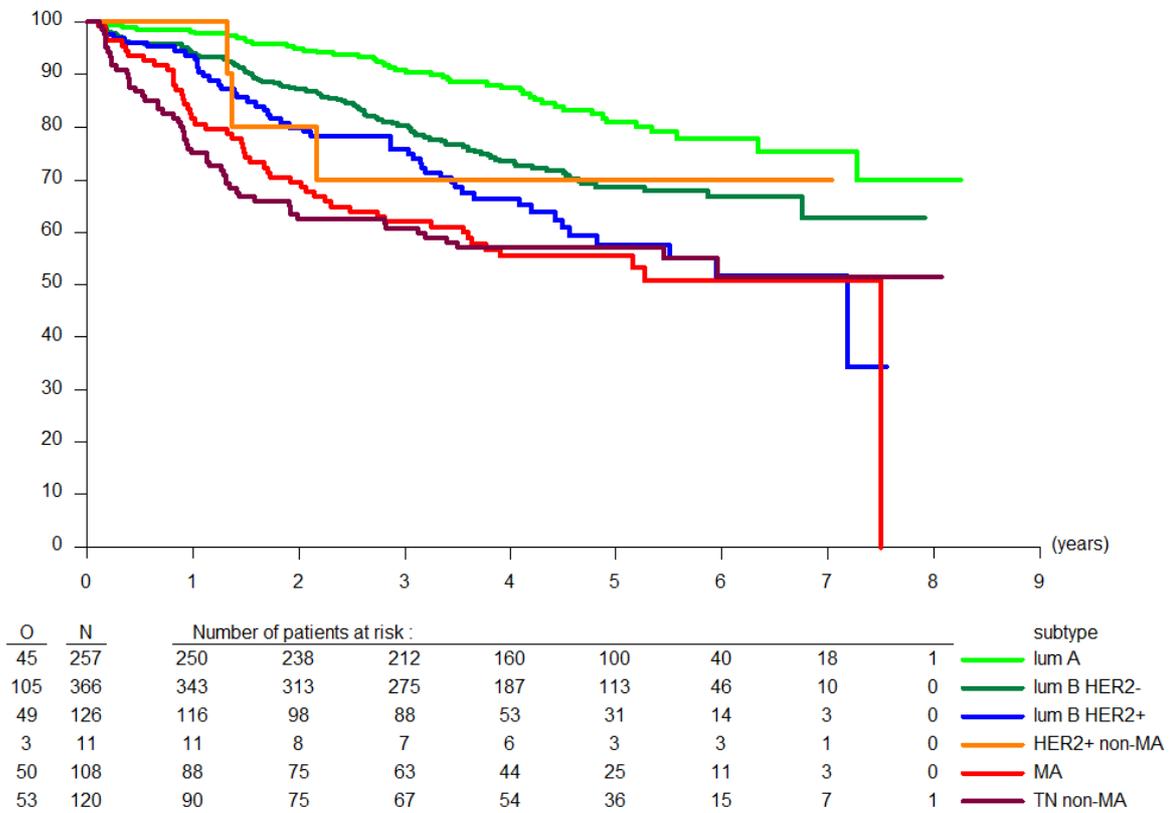
Les tumeurs quadruple négatives et moléculaires apocrines ont le plus mauvais pronostic. Le tableau 4 rapporte les intervalles sans rechute, intervalles sans rechute à distance et survie globale pour chaque sous-type.

La figure 4 représente l'intervalle sans rechute pour chaque sous-type.

**Tableau 6** : Résultats de l'intervalle sans rechute, de l'intervalle sans rechute à distance, et de la survie globale pour chaque sous-type.

<u>Intervalle sans rechute</u>			Non paramétrée				Modèle de Cox
Sous-type	Patients (N)	Événements observés (O)	Médiane (années)	(95% CI)	% à (95% CI)	5 ans	Hazard Ratio (95% CI)
lum A	257	45	Non atteinte		80.9 (74.6, 85.8)		1.00
lum B HER2-	366	105	Non atteinte		68.6 (63.0, 73.5)		1.80 (1.27, 2.55)
lum B HER2+	126	49	7.18 (4.56, N)		57.5 (46.8, 66.8)		2.63 (1.76, 3.95)
HER2+ non-lum non-MA	11	3	Non atteinte		70.0 (32.9, 89.2)		1.78 (0.55, 5.72)
Moléculaire Apocrine	108	50	7.49 (3.60, 7.49)		55.5 (45.5, 64.5)		3.41 (2.28, 5.11)
Quadruple négatives	120	53	Non atteinte		57.0 (47.6, 65.4)		3.32 (2.23, 4.94)
<u>Intervalle sans rechute à distance</u>			Non-paramétrée				Modèle de Cox
Sous-type	Patients (N)	Événements observés (O)	Médiane (années)	(95% CI)	% à (95% CI)	5 ans	Hazard Ratio (95% CI)
lum A	257	42	Non atteinte		82.3 (76.1, 87.0)		1.00
lum B HER2-	366	94	Non atteinte		71.3 (65.7, 76.1)		1.69 (1.17, 2.43)
lum B HER2+	126	39	7.18 (5.94, N)		65.8 (55.1, 74.5)		2.14 (1.38, 3.31)
HER2+ non-lum non-MA	11	2	Non atteinte		80.0 (40.9, 94.6)		1.14 (0.28, 4.73)
Moléculaire Apocrine	108	41	Non atteinte		63.9 (53.8, 72.3)		2.79 (1.81, 4.29)
Quadruple négatives	120	46	Non atteinte		61.7 (52.2, 69.9)		2.92 (1.92, 4.44)
<u>Survie globale</u>			Non-paramétrée				Modèle de Cox
Sous-type	Patients (N)	Événements observés (O)	Médiane (années)	(95% CI)	% à (95% CI)	5 ans	Hazard Ratio (95% CI)
lum A	257	25	Non atteinte		92.5 (88.0, 95.4)		1.00
lum B HER2-	366	54	Non atteinte		85.0 (80.1, 88.7)		1.62 (1.01, 2.61)
lum B HER2+	126	19	Non atteinte		84.5 (75.0, 90.6)		1.65 (0.91, 3.00)
HER2+ non-lum non-MA	11	2	Non atteinte		81.8 (44.7, 95.1)		1.78 (0.42, 7.51)
Moléculaire Apocrine	108	27	Non atteinte		74.5 (64.7, 82.0)		2.96 (1.72, 5.10)
Quadruple négatives	120	39	Non atteinte		64.8 (54.9, 73.2)		4.13 (2.50, 6.82)

**Figure 5 :** Intervalle libre sans rechute selon le sous-type



## II.4) Discussion

### II.4.A) Utilisation d'un Tissue Micro-Array

Dans l'étude EORTC 10 994/ BIG 1-00, le statut des récepteurs ER-, PgR-, Ki67 et le statut Her2 était initialement déterminé par le pathologiste de chacun des 42 centres. Seul le statut sauvage ou muté de P53 était défini pour toutes les patientes à Lausanne à l'ISREC (Swiss Institute for Experimental Cancer Research) grâce au test fonctionnel sur levure. (H. Bonnefoi et al. 2002)

Le TMA a été construit ultérieurement, dans l'optique d'études complémentaires. Les centres, si ils acceptaient, devaient envoyer un bloc en paraffine de la biopsie diagnostique.. 25 laboratoires d'anatomopathologies ont adressé ce matériel, entre 2008 et 2010. Le matériel était parfois de qualité insuffisante pour un certain nombre de patientes, ce qui explique que seules 1123 biopsies ont été incluses dans ce TMA. Ce nombre de biopsies est cependant important, et nous permet d'obtenir dans notre étude une puissance statistique non négligeable.

Depuis sa description en 1998 par Kononen (Kononen et al. 1998), la technique du Tissue Micro-Array a été très largement utilisée. Elle permet une épargne du matériel tumoral, avec une grande facilité de lecture, et une économie de temps. Elle est particulièrement utilisée pour l'évaluation du matériel tumoral de patients inclus dans des essais cliniques, avec un recrutement large. En 2002, les taux de concordance pour l'expression immunohistochimique de p53, sur 4 TMA de 150 patients, et les lames d'origine des tumeurs, ont été mesurés. Cette étude a démontré un excellent taux de concordance entre les 2 techniques, en particulier si 3 à 4 copies étaient intégrées dans le TMA. (Milanes-Yearsley et al. 2002) La lecture des profils d'expression sur le TMA, plutôt que sur les lames d'origines, ne nous semble donc pas être une limite sévère de notre étude.

Notre étude est la plus grande série évaluant le taux de RCH dans un essai prospectif randomisé de chimiothérapie néoadjuvante, et étudiant les tumeurs moléculaires apocrines. Pour comparaison, dans l'étude de Loibl, les biopsies de 673 patientes randomisées dans l'essai de chimiothérapie néoadjuvante GeparTrio ont été incluses dans un TMA. (Loibl et al. 2011) Asano et al, sans utiliser de TMA, ont analysé l'expression de AR de 177 tumeurs mammaires, et leur taux de RCH après chimiothérapie néo-adjuvante. (Asano et al. 2016)

En phase adjuvante, Lakis et al ont analysé l'expression de AR sur 807 tumeurs de patientes incluses dans 2 études grecques de chimiothérapies adjuvante (HE 10/97 et HE 10/00), ainsi que la survie des tumeurs moléculaires apocrines et des autres sous-groupes. (Lakis et al. 2014)

Enfin, Masuda et al ont étudié le taux de RCH de 130 tumeurs triple négatives, dont le sous-type était défini par profil d'expression. (Masuda et al. 2013)

#### **II.4.B) Choix des marqueurs et choix des seuils de positivité**

La lecture centralisée de Her2 a permis d'utiliser les recommandations du GEPFICS les plus récentes. (Wolff et al. 2013) Elles recommandent, uniquement en cas de statut en immunohistochimie de Her2 équivoque (2+), de réaliser un contrôle par méthode d'hybridation in situ, avec évaluation du nombre de copies du gène Her2 par noyau. Nous avons réalisé un test en FISH, avec évaluation du nombre de copies (et éventuelle évaluation du rapport Her2/Cen17), sur l'ensemble des biopsies du TMA, y compris lorsque le statut en IHC était 0+, 1+ ou 3+. En cas de résultats discordants entre les 2 techniques, nous avons privilégié les résultats positifs. Toutes les tumeur ayant un nombre de copies de Her2 en FISH compris entre 4 et 6 avaient un rapport Her2/Cen17 <2. Ainsi, nous n'avons reconnu comme positif que les résultats de FISH retrouvant  $\geq 6$  copies de Her2. Les cas étaient considérés comme non interprétables lorsqu'ils étaient non interprétables pour les 2 techniques, (52 cas dans notre TMA), ou 2+ en IHC et ininterprétable en FISH (2 cas). 54 tumeurs seulement étaient donc de statut Her2 ininterprétable. Sur nos 1123 tumeurs, 12 cas seulement étaient discordants : 9 cas de tumeurs 0+ ou 1+ en IHC et positifs en FISH, et 3 cas 3+ en IHC et négatifs en FISH. Ce taux de discordance extrêmement faible confirme la fiabilité de nos méthodes.

Pour les récepteurs ER et PgR, nous avons choisi un seuil de positivité de  $\geq 10\%$ . Ce seuil est celui recommandé en France, mais de nombreux pays recommandent l'utilisation d'un seuil  $\geq 1\%$ . Cependant le pourcentage de tumeurs présentant des récepteurs hormonaux compris entre 0 et 10% est très faible, et Iwamoto et al ont montré que ces tumeurs, majoritairement, n'expriment pas l'ARNm de ESR1 et n'ont pas un profil d'expression luminal. (Iwamoto et al. 2012)

Pour le récepteur Ki67, nous avons choisi le seuil d'expression  $\geq 14\%$ . Plusieurs seuils ont été proposés, mais celui-ci a été déterminé grâce à une étude de profil d'expression. (Cheang et al. 2009) C'est celui qui a été retenu dans la conférence de Sant Gallen de 2011.

Nous avons choisi de définir les tumeurs moléculaires apocrines comme des tumeurs ER- PgR-/ AR

L'équipe de Lehmann-Che a étudié 58 tumeurs moléculaires apocrines, identifiées par une signature de qRT-PCR de 8 gènes, établie à partir de profils d'expression. (Lehmann-Che et al. 2013) Seuls 58% des tumeurs moléculaires apocrines de cette étude exprimaient AR+. Le profil immunohistochimique ER-/ Her2+ ou GCDFP15+ les définissait avec une meilleure sensibilité et spécificité (respectivement 94% et 100%). Les auteurs proposaient pour l'identification des tumeurs moléculaires apocrines un test composite associant qRT-PCR et IHC. Ce travail n'a cependant pas été confirmé par d'autres équipes.

L'intégration du marqueur FoxA1 dans la définition IHC des tumeurs moléculaires apocrines a aussi été évoquée. Robinson et al ont montré que dans ces tumeurs, l'activation de la transcription dépendante de AR est quasi entièrement médiée par FoxA1. (Robinson et al. 2011) Bernardo et al ont montré que FoxA1 est essentiel au maintien du phénotype luminal dans les tumeurs ER+, non seulement en activant la transcription des gènes luminaux, mais aussi en réprimant la transcription des gènes basaux. Ils ont retrouvé un effet similaire dans la lignée ER- MDA-MB-453. (Bernardo et al. 2013)

Guiu et al ont analysé le phénotype tumoral de tumeurs incluses dans l'essai français de chimiothérapie adjuvante PACS08. (Guiu et al. 2012) Ils ont étudié le profil immunohistochimique de 762 blocs tumoraux inclus dans un TMA, en utilisant les marqueurs ER, PgR, Her2, AR et FoxA1, ainsi que les caractéristiques histologiques de 745 tumeurs. Ils ont montré que leurs 70 tumeurs ER-/ AR+/ FoxA1+, en comparaison aux 48 tumeurs ER-/ AR+/FoxA1- avaient un phénotype plus proche de celui des tumeurs lumineuses, un plus bas grade et survenaient chez des patientes plus âgées. Ils concluent que le statut ER-/ AR+/ FoxA1+ seraient plus performant pour identifier les tumeurs moléculaires apocrines. Dans leur étude, les tumeurs triple négatives AR+/ FoxA1- représentaient 48/ 460 cas.

Nous avons aussi réalisé le marqueur FoxA1 sur notre TMA (résultats non présentés dans cette étude) avec un taux de tumeurs ER-/ AR+/ FoxA1- encore plus faible. Nous avons choisi de ne pas intégrer FoxA1 dans notre définition du sous-type moléculaire apocrine pour des raisons pragmatiques. En effet, ce marqueur n'est utilisé dans aucun essai thérapeutique. Les études les plus récentes envisagent d'autres tests, comme Predict-AR, pour prédire la réponse aux traitements ciblant les androgènes. (Parker et al. 2015)

Enfin, nous avons choisi un seuil de positivité de AR  $\geq$  10%. Les seuils de positivité choisis pour AR varient dans littérature de 1 à 25%. (McNamara et al. 2013) Le seuil de 1% a été largement utilisé, notamment dans les études américaines. Ce seuil a été utilisé dans les 2 études princeps évaluant le Bicalutamide et l'Acétate d'Abiratérone. (Gucalp et al. 2013; H. Bonnefoi et al. 2016) Dans l'étude évaluant l'Enzalutamide, les patients ayant un taux de AR compris entre 1 et 10% avaient un taux de bénéfice clinique moindre sous Enzalutamide. (Traina et al. 2015) Idéalement, la définition immunohistochimique des tumeurs moléculaires apocrines, ainsi que la définition du seuil de positivité des AR, devraient être déterminé par une étude de concordance avec les profils d'expression de ces tumeurs.

#### **II.4.C) Fréquence et caractéristiques des tumeurs moléculaires apocrines dans notre population**

Dans notre étude, nous retrouvons 108 tumeurs moléculaires apocrines sur 1 092 tumeurs, soit 9,9% des cas. Cette fréquence est dans la fourchette de 8 à 11% retrouvée dans les études de transcriptomique.

Dans la revue de McNamara, pour les études avec un seuil AR  $\geq$ 10%, on observait une grande variabilité selon les études, avec des pourcentages de tumeurs AR+ variant de 10 à 50%. (McNamara et al. 2013)

35,2% de nos 108 tumeurs moléculaires apocrines sont Her2-, et 62,9% sont Her2+, ce qui correspond aussi aux fréquences retrouvées dans la littérature. (Park et al. 2010; Loibl et al. 2011; Lakis et al. 2014; Guiu et al. 2012)

Concernant les caractéristiques de nos tumeurs, seul l'âge des patientes, et logiquement le statut ménopausée est plus élevé pour les tumeurs moléculaires apocrines. Les autres facteurs n'étaient pas statistiquement différents.

Ces tumeurs sont de grade 3 dans 47,2% des cas, et leur score Ki67 est élevé dans 80,6% des cas. Ces tumeurs sont donc relativement agressives, contrairement à ce qui est généralement cru.

Nous n'avons évidemment pas pu rechercher de différenciation apocrine sur le TMA.

#### **II.4.D) Taux de réponse histologique complète**

Le taux de réponse histologique complète est un facteur largement utilisé car il est un excellent facteur pronostic.

En particulier, Bonnefoi et al ont montré dans une analyse rétrospective en 2 étapes de l'essai EORTC 10994/ BIG 1-00, que le taux de RCH est un facteur indépendant prédictif d'une meilleure survie sans événement (HR : 0,40 ;  $p < 0,001$ ), d'une meilleure survie sans métastases à distance (HR : 0,32 ;  $p < 0,001$ ) et d'une meilleure survie globale (HR : 0,32 ;  $p < 0,001$ ). La RCH était statistiquement prédictive d'une meilleure survie sans événements dans les sous types Triple négatif, Her2 non luminal, et luminal B Her2+ (elle tendait vers la significativité pour les sous-types luminal A et luminal B Her2-). (H. Bonnefoi et al. 2014)

En 2014, Cortazar et al ont réalisé une analyse poolée de 12 essais de chimiothérapie néo-adjuvante, incluant 11 955 patientes. (Cortazar et al. 2014) Ils ont montré que la définition de la RCH par le statut ypT0 ypN0 ou ypT0/is ypN0, c'est à dire l'éradication de la tumeur dans le sein et les ganglions, était la meilleure définition pour la prédiction d'une meilleure survie sans événement et survie globale.

Cette définition de la pCR ypT0/is ypN0 est celle choisie dans l'étude EORTC 10 994/ BIG 1-00.

L'étude de Cortazar a confirmé l'association entre la RCH et une meilleure survie. Cependant, elle a aussi montrée une association faible et non significative entre l'augmentation du taux de RCH entre 2 protocoles de chimiothérapies, et l'amélioration de la survie sans événements entre ces 2 protocoles. La méta-analyse de Berruti a aussi confirmé cette faible association. (Berruti et al. 2014) Actuellement, la RCH ne peut donc

être un critère d'évaluation unique dans les essais néo-adjuvant, et les résultats de survie sont nécessaires pour juger de l'efficacité d'un nouveau protocole de chimiothérapie. (Korn, Sachs, and McShane 2016)

Nous retrouvons dans notre étude un taux de RCH de 34,61% pour les tumeurs moléculaires apocrines quel que soit leur statut Her2, 36,1% pour les tumeurs MA Her2-, et 31,8% pour les tumeurs MA Her2+.

Les 2 études ayant décrit le taux de RCH de ces tumeurs retrouvent des taux voisins, mais sur de petits effectifs. Loibl a retrouvé un taux de RCH de 29,2% pour les 23 tumeurs ER-/Her2-/AR+, et de 41,7% pour les 25 tumeurs ER-/Her2+/AR+. Ces taux étaient respectivement de 17,3% (4/17 cas) et 43,3% (13/30 cas) dans l'étude de Asano.

En revanche, dans l'étude de Masuda, les 20 tumeurs triples négatives de type LAR avaient un taux de RCH particulièrement bas de 10%.

Les taux de RCH des autres sous-types de notre étude sont proches de ceux décrits dans la littérature.

Nous retrouvons pour nos sous-types luminal A, luminal B Her2-, luminal B Her2+, Her2+ non luminal non moléculaire apocrine, et quadruple négatives, des taux de RCH de respectivement 7,45%, 12,74%, 27,64% 36,36% et 33,02%. Par comparaison, dans l'analyse poolée de Cortazar, avec des définitions différentes basées sur le grade et n'incluant pas AR, les taux de RCH pour ces sous groupes sont de 7,5%, 16,2%, 18,3%, 30,2% et 33,6%. (Cortazar et al. 2014) Dans la revue de Von Minckwitz, ces taux sont de 8,9%, 15,4%, 17,2%, 33,1% et 35,8%. (Minckwitz et al. 2012) Dans ces 2 études les auteurs ont analysé la RCH des tumeurs Her2+ selon qu'elles avaient ou non reçu du trastuzumab en néo-adjuvant.

#### **II.4.E) Résultats de survie**

Nous retrouvons un taux de patiente n'ayant pas rechuté à 5ans de 55,5% pour les tumeurs moléculaires apocrines. Ce taux est de 65,7% pour les tumeurs MA Her2-, et 48,2% pour les tumeurs MA Her2+. Dans l'étude de Loibl, ils étaient respectivement de 85,7% et 61,1% avec 60 mois de suivi. Le taux de patiente n'ayant pas rechuté à distance à 5ans, est de 70,7% pour les tumeurs MA Her2-, et 58,9% pour les tumeurs Ma Her2+ dans notre étude.

Ainsi, contrairement à ce qui a été retrouvé dans d'autres études, d'après ces résultats, nous ne pouvons pas affirmer que les tumeurs apocrines font préférentiellement des rechutes loco-régionales. Notre étude n'a pas été construite cependant pour rechercher cette prédominance.

Les taux de survie globale à 5 ans pour les tumeurs MA au total, MA Her2- et MA Her2+ sont respectivement de 74,5%, 69,6% et 76,4% dans notre étude. Ces taux, relativement médiocres, confirment qu'il existe un réel besoin médical insatisfait pour la prise en charge de ces tumeurs.

#### **II.4.D) Perspectives**

L'identification des tumeurs moléculaires apocrines pourrait être réalisée par des méthodes plus modernes que celles que nous avons employées. Sur un plan biologique, une signature immunohistochimique, validée par un test de concordance avec les profils d'expression (cf précédent), serait pertinente. D'un point de vue thérapeutique, une signature en qRT-PCR, identifiant les principaux gènes activés par les androgènes, et impliqués dans le phénotype tumoral, pourrait être utile. Cette signature, plus qu'un rôle diagnostique, pourrait prédire la sensibilité aux traitements anti-androgènes.

Le test Predict-AR a été conçu comme un test prédictif de la réponse à l'Enzalutamide, pour les tumeurs triple-négatives exprimant AR. (Parker et al. 2015) Les patientes de l'étude de Traina ayant un test Predict-AR positif avaient un taux de bénéfice clinique sous Enzalutamide à 16 et 24 semaines de respectivement 39 et 36% , meilleur que les patientes ayant un test Predict-AR négatif (respectivement 11 et 6%). Cette étude n'a cependant pas encore été publiée. D'après les données disponibles, les gènes utilisés pour ce test ont été définis par classification hiérarchique, indépendamment de leur rôle biologique. De plus ce test pourrait simplement être pronostic de l'agressivité de ces tumeurs, et non prédictif d'une réponse. Enfin, ce test a été développé pour des patientes traitées par Enzalutamide uniquement. Au vu des nombreux traitements ciblant la voie des androgènes en développement, un test prédictif de la réponse à l'ensemble de cette famille thérapeutique serait plus pertinent.

Le bénéfice clinique obtenu dans les 3 grands essais ciblant la voie des androgènes dans les tumeurs moléculaires apocrines, d'environ 20% à 6 mois, est relativement faible. Par comparaison, l'essai de phase II PALOMA 1 a randomisé des patientes ménopausées ayant une tumeur du sein avancée ER+/ Her2-, en 1<sup>e</sup> ligne métastatique, entre 2 bras : letrozole + placebo versus letrozole + palbociclib. Le taux de bénéfice clinique à 6 mois était de 58% dans le bras letrozole , et 81% dans le bras letrozole + palbociclib. Les connaissances scientifiques sont actuellement insuffisantes pour déterminer si cette moindre sensibilité des tumeurs moléculaires apocrines aux anti-androgènes est liée à l'apparition précoce de résistances, ou à un effet oncogénique moins direct de l'activation de AR. Les études portant sur les différents mécanismes de résistance des tumeurs moléculaires apocrines sont donc très attendues.

La majeure partie des essais cliniques utilisant des traitements ciblant la voie des androgènes inclut actuellement des patientes porteuses de tumeurs triples négatives AR+. Peu d'essais utilisant des anti-androgènes sont en cours pour les tumeurs ER-/ Her2+/ AR+, De nombreuses autres thérapeutiques : nouveaux anti Her2, immunothérapies... sont actuellement évaluées dans cette population, et rentrent probablement en concurrence. La voie des AR semble cependant jouer un rôle majeur dans l'émergence de résistances aux anti-Her2, et des combinaisons ciblant ces 2 voies pourraient permettre de contourner ces résistances.

## **II.5) Conclusion**

Notre étude confirme que les tumeurs moléculaires apocrines représentent environ 10% des cancers du sein. Parmi elles, un tiers n'expriment pas Her2 et n'ont pas accès aux thérapies anti-Her2. Leur taux de réponse histologique complète est de 35%, et il est similaire dans les sous-groupes Her2+ et Her2-. En dépit de ce taux relativement élevé suggérant une bonne chimiosensibilité, le taux de rechute à 5 ans est de 45%. Ce taux est comparable à celui des tumeurs quadruple négatives. Le pronostic réservé des tumeurs moléculaires apocrines incite à poursuivre le développement de nouvelles options thérapeutiques, en particulier des traitements ciblant la voie des androgènes.

## Conclusion

Notre travail a permis, en premier lieu par une revue de la littérature, de faire le point sur l'oncogénèse, l'épidémiologie et le pronostic de ces tumeurs.

Notre étude originale a permis d'affiner notre connaissance de ces tumeurs. A partir du matériel tumoral centralisé dans un TMA, de patientes incluses dans l'essai de phase III EORTC 10 994/ BIG 1-00. Il s'agit de la plus grande série étudiant des tumeurs moléculaires apocrines définies par immunohistochimie. La fréquence de 10% des tumeurs moléculaires apocrines dans notre population et le taux d'expression de Her2 dans ces tumeurs, confirment les résultats retrouvés par d'autres équipes. En dépit d'un taux de réponse histologique complète de 35% après chimiothérapie néo-adjuvante, le pronostic de ces tumeurs est médiocre: 45% des patientes porteuses de tumeurs moléculaires apocrines ont rechuté à 5 ans, avec des perspectives thérapeutiques limitées, en particulier pour celles qui n'expriment pas Her2.

Notre étude devrait inciter à poursuivre le développement de nouvelles thérapeutiques pour ces tumeurs moléculaires apocrines, et notamment les traitements ciblant la voie des androgènes.

## Bibliographie

- Agoff, S. Nicholas, Paul E. Swanson, Hannah Linden, Stephen E. Hawes, and Thomas J. Lawton. 2003. "Androgen Receptor Expression in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer. Immunohistochemical, Clinical, and Prognostic Associations." *American Journal of Clinical Pathology* 120 (5): 725–31. doi:10.1309/42F0-0D0D-JD0J-5EDT.
- AJCC Cancer Staging Manual | Stephen Edge | Springer*. 2015. Accessed November 18. <http://www.springer.com/us/book/9780387884400>.
- Ali, S., and R. C. Coombes. 2000. "Estrogen Receptor Alpha in Human Breast Cancer: Occurrence and Significance." *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 5 (3): 271–81.
- Antonarakis, Emmanuel S., Changxue Lu, Hao Wang, Brandon Lubber, Mary Nakazawa, Jeffrey C. Roeser, Yan Chen, et al. 2014. "AR-V7 and Resistance to Enzalutamide and Abiraterone in Prostate Cancer." *The New England Journal of Medicine* 371 (11): 1028–38. doi:10.1056/NEJMoa1315815.
- Arce-Salinas, Claudia, Maria Carmen Riesco-Martinez, Wedad Hanna, Philippe Bedard, and Ellen Warner. 2014. "Complete Response of Metastatic Androgen Receptor-Positive Breast Cancer to Bicalutamide: Case Report and Review of the Literature." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, June. doi:10.1200/JCO.2013.49.8899.
- Arpino, Grazia, Valerie J. Bardou, Gary M. Clark, and Richard M. Elledge. 2004. "Infiltrating Lobular Carcinoma of the Breast: Tumor Characteristics and Clinical Outcome." *Breast Cancer Research* 6 (3): R149.
- Asano, Yuka, Shinichiro Kashiwagi, Naoyoshi Onoda, Kento Kurata, Tamami Morisaki, Satoru Noda, Tsutomu Takashima, Masahiko Ohsawa, Seiichi Kitagawa, and Kosei Hirakawa. 2016. "Clinical Verification of Sensitivity to Preoperative Chemotherapy in Cases of Androgen Receptor-Expressing Positive Breast Cancer." *British Journal of Cancer* 114 (1): 14–20. doi:10.1038/bjc.2015.434.
- Asghar, Uzma, Maria Teresa Herrera-Abreu, Ros Cutts, Irina Babina, Alex Pearson, and Nicholas C. Turner. 2015. "Identification of Subtypes of Triple Negative Breast Cancer (TNBC) That Are Sensitive to CDK4/6 Inhibition." *Journal of Clinical Oncology* 33 (suppl; abstr

11098). <http://meetinglibrary.asco.org/content/147443-156>.

Attard, Gerhardt, Arie S. Belldegrun, and Johann S. De Bono. 2005. "Selective Blockade of Androgenic Steroid Synthesis by Novel Lyase Inhibitors as a Therapeutic Strategy for Treating Metastatic Prostate Cancer." *BJU International* 96 (9): 1241–46.

doi:10.1111/j.1464-410X.2005.05821.x.

Attard, Gerhardt, Joost F. Swennenhuis, David Olmos, Alison H. M. Reid, Elaine Vickers, Roger A'Hern, Rianne Levink, et al. 2009. "Characterization of ERG, AR and PTEN Gene Status in Circulating Tumor Cells from Patients with Castration-Resistant Prostate Cancer." *Cancer Research* 69 (7): 2912–18. doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-3667.

Augello, Michael A, Theresa E Hickey, and Karen E Knudsen. 2011. "FOXA1: Master of Steroid Receptor Function in Cancer." *The EMBO Journal* 30 (19): 3885–94.

doi:10.1038/emboj.2011.340.

Balbas, Minna D., Michael J. Evans, David J. Hosfield, John Wongvipat, Vivek K. Arora, Philip A. Watson, Yu Chen, Geoffrey L. Greene, Yang Shen, and Charles L. Sawyers. 2013.

"Overcoming Mutation-Based Resistance to Antiandrogens with Rational Drug Design." *eLife* 2: e00499. doi:10.7554/eLife.00499.

Banerji, Shantanu, Kristian Cibulskis, Claudia Rangel-Escareno, Kristin K. Brown, Scott L. Carter, Abbie M. Frederick, Michael S. Lawrence, et al. 2012. "Sequence Analysis of Mutations and Translocations across Breast Cancer Subtypes." *Nature* 486 (7403): 405–9.

doi:10.1038/nature11154.

Banneau, Guillaume, Mickaël Guedj, Gaëtan MacGrogan, Isabelle de Mascarel, Valerie Velasco, Renaud Schiappa, Valerie Bonadona, et al. 2010. "Molecular Apocrine Differentiation Is a Common Feature of Breast Cancer in Patients with Germline PTEN Mutations." *Breast Cancer Research: BCR* 12 (4): R63. doi:10.1186/bcr2626.

Beer, Tomasz M., Andrew J. Armstrong, Dana E. Rathkopf, Yohann Loriot, Cora N. Sternberg, Celestia S. Higano, Peter Iversen, et al. 2014. "Enzalutamide in Metastatic Prostate Cancer before Chemotherapy." *The New England Journal of Medicine* 371 (5): 424–33.

doi:10.1056/NEJMoa1405095.

Bernardo, G. M., G. Bebek, C. L. Ginther, S. T. Sizemore, K. L. Lozada, J. D. Miedler, L. A. Anderson, et al. 2013. "FOXA1 Represses the Molecular Phenotype of Basal Breast Cancer Cells." *Oncogene* 32 (5): 554–63. doi:10.1038/onc.2012.62.

Berruti, Alfredo, Vito Amoroso, Fabio Gallo, Valentina Bertaglia, Edda Simoncini, Rebecca

Pedersini, Laura Ferrari, Alberto Bottini, Paolo Bruzzi, and Maria Pia Sormani. 2014. "Pathologic Complete Response as a Potential Surrogate for the Clinical Outcome in Patients with Breast Cancer after Neoadjuvant Therapy: A Meta-Regression of 29 Randomized Prospective Studies." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 32 (34): 3883–91. doi:10.1200/JCO.2014.55.2836.

Bertucci, François, Pascal Finetti, Nathalie Cervera, Benjamin Esterni, Fabienne Hermitte, Patrice Viens, and Daniel Birnbaum. 2008. "How Basal Are Triple-Negative Breast Cancers?" *International Journal of Cancer* 123 (1): 236–40. doi:10.1002/ijc.23518.

Berx, G., A. M. Cleton-Jansen, F. Nollet, W. J. de Leeuw, M. van de Vijver, C. Cornelisse, and F. van Roy. 1995. "E-Cadherin Is a Tumour/Invasion Suppressor Gene Mutated in Human Lobular Breast Cancers." *The EMBO Journal* 14 (24): 6107.

Birrell, Stephen N., Lisa M. Butler, Jonathan M. Harris, Grant Buchanan, and Wayne D. Tilley. 2007. "Disruption of Androgen Receptor Signaling by Synthetic Progestins May Increase Risk of Developing Breast Cancer." *The FASEB Journal* 21 (10): 2285–93. doi:10.1096/fj.06-7518com.

Blows, Fiona M., Kristy E. Driver, Marjanka K. Schmidt, Annegien Broeks, Flora E. van Leeuwen, Jelle Wesseling, Maggie C. Cheang, et al. 2010. "Subtyping of Breast Cancer by Immunohistochemistry to Investigate a Relationship between Subtype and Short and Long Term Survival: A Collaborative Analysis of Data for 10,159 Cases from 12 Studies." *PLoS Medicine* 7 (5): e1000279. doi:10.1371/journal.pmed.1000279.

Boer, M. de, J. A. A. M. van Dijck, P. Bult, G. F. Borm, and V. C. G. Tjan-Heijnen. 2010. "Breast Cancer Prognosis and Occult Lymph Node Metastases, Isolated Tumor Cells, and Micrometastases." *Journal of the National Cancer Institute* 102 (6): 410–25. doi:10.1093/jnci/djq008.

Bonnefoi, H., A. Ducraux, S. Movarekhi, M. F. Pelte, S. Bongard, E. Lurati, and R. Iggo. 2002. "p53 as a Potential Predictive Factor of Response to Chemotherapy: Feasibility of p53 Assessment Using a Functional Test in Yeast from Trucut Biopsies in Breast Cancer Patients." *British Journal of Cancer* 86 (5): 750–55. doi:10.1038/sj.bjc.6600105.

Bonnefoi, H., T. Grellety, O. Tredan, M. Saghatchian, F. Dalenc, A. Mailliez, T. L'Haridon, et al. 2016. "A Phase II Trial of Abiraterone Acetate plus Prednisone in Patients with Triple-Negative Androgen Receptor Positive Locally Advanced or Metastatic Breast Cancer (UCBG 12-1)." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology /*

ESMO 27 (5): 812–18. doi:10.1093/annonc/mdw067.

Bonnefoi, H., S. Litière, M. Piccart, G. MacGrogan, P. Fumoleau, E. Brain, T. Petit, et al. 2014. “Pathological Complete Response after Neoadjuvant Chemotherapy Is an Independent Predictive Factor Irrespective of Simplified Breast Cancer Intrinsic Subtypes: A Landmark and Two-Step Approach Analyses from the EORTC 10994/BIG 1-00 Phase III Trial.” *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 25 (6): 1128–36. doi:10.1093/annonc/mdu118.

Bonnefoi, Hervé, Martine Piccart, Jan Bogaerts, Louis Mauriac, Pierre Fumoleau, Etienne Brain, Thierry Petit, et al. 2011. “TP53 Status for Prediction of Sensitivity to Taxane versus Non-Taxane Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer (EORTC 10994/BIG 1-00): A Randomised Phase 3 Trial.” *The Lancet. Oncology* 12 (6): 527–39. doi:10.1016/S1470-2045(11)70094-8.

Bose, Ron, Shyam M. Kavuri, Adam C. Searleman, Wei Shen, Dong Shen, Daniel C. Koboldt, John Monsey, et al. 2013. “Activating HER2 Mutations in HER2 Gene Amplification Negative Breast Cancer.” *Cancer Discovery* 3 (2): 224–37. doi:10.1158/2159-8290.CD-12-0349.

“Cancer Du Sein Infiltrant Non Métastatique - Questions D’actualités (Annexes) - Ref : ANNEXESEININFILT12 | Institut National Du Cancer.” 2016. Accessed June 27. <http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Cancer-du-sein-infiltrant-non-metastatique-questions-d-actualites-annexes>.

Cancer Genome Atlas Network. 2012. “Comprehensive Molecular Portraits of Human Breast Tumours.” *Nature* 490 (7418): 61–70. doi:10.1038/nature11412.

“Cancer of the Breast - SEER Stat Fact Sheets.” 2015. Accessed July 31. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html>.

Cardoso, F., A. Costa, L. Norton, E. Senkus, M. Aapro, F. André, C. H. Barrios, et al. 2014. “ESO-ESMO 2nd International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC2).” *Annals of Oncology*, September, mdu385. doi:10.1093/annonc/mdu385.

Carter, C. L., C. Allen, and D. E. Henson. 1989. “Relation of Tumor Size, Lymph Node Status, and Survival in 24,740 Breast Cancer Cases.” *Cancer* 63 (1): 181–87.

Carver, Brett S., Caren Chapinski, John Wongvipat, Haley Hieronymus, Yu Chen, Sarat Chandarlapaty, Vivek K. Arora, et al. 2011. “Reciprocal Feedback Regulation of PI3K and Androgen Receptor Signaling in PTEN-Deficient Prostate Cancer.” *Cancer Cell* 19 (5): 575–86. doi:10.1016/j.ccr.2011.04.008.

Cheang, Maggie C. U., Stephen K. Chia, David Voduc, Dongxia Gao, Samuel Leung, Jacqueline Snider, Mark Watson, et al. 2009. "Ki67 Index, HER2 Status, and Prognosis of Patients with Luminal B Breast Cancer." *Journal of the National Cancer Institute* 101 (10): 736–50. doi:10.1093/jnci/djp082.

Cheang, Maggie C. U., K. David Voduc, Dongsheng Tu, Shan Jiang, Samuel Leung, Stephen K. Chia, Lois E. Shepherd, et al. 2012. "Responsiveness of Intrinsic Subtypes to Adjuvant Anthracycline Substitution in the NCIC.CTG MA.5 Randomized Trial." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 18 (8): 2402–12. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-2956.

Chia, Kee Ming, Ji Liu, Glenn D. Francis, and Ali Naderi. 2011. "A Feedback Loop between Androgen Receptor and ERK Signaling in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer." *Neoplasia (New York, N.Y.)* 13 (2): 154–66.

Chia, KeeMing, Megan O'Brien, Myles Brown, and Elgene Lim. 2015. "Targeting the Androgen Receptor in Breast Cancer." *Current Oncology Reports* 17 (2): 4. doi:10.1007/s11912-014-0427-8.

Choi, Jung Eun, Su Hwan Kang, Soo Jung Lee, and Young Kyung Bae. 2015. "Androgen Receptor Expression Predicts Decreased Survival in Early Stage Triple-Negative Breast Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 22 (1): 82–89. doi:10.1245/s10434-014-3984-z.

Choi, Junjeong, Woo-Hee Jung, and Ja Seung Koo. 2012. "Clinicopathologic Features of Molecular Subtypes of Triple Negative Breast Cancer Based on Immunohistochemical Markers." *Histology and Histopathology* 27 (11): 1481–93.

Christgen, Matthias, and Patrick WB Derksen. 2015. "Lobular Breast Cancer: Molecular Basis, Mouse and Cellular Models." *Breast Cancer Research : BCR* 17 (1). doi:10.1186/s13058-015-0517-z.

Ciuppek, Andrew, Yassine Rechoum, Guowei Gu, Luca Gelsomino, Amanda R. Beyer, Lauren Brusco, Kyle R. Covington, Anna Tsimelzon, and Suzanne A. W. Fuqua. 2015. "Androgen Receptor Promotes Tamoxifen Agonist Activity by Activation of EGFR in ER $\alpha$ -Positive Breast Cancer." *Breast Cancer Research and Treatment* 154 (2): 225–37. doi:10.1007/s10549-015-3609-7.

Clegg, Nicola J., John Wongvipat, James D. Joseph, Chris Tran, Samedy Ouk, Anna Dilhas, Yu Chen, et al. 2012. "ARN-509: A Novel Antiandrogen for Prostate Cancer Treatment." *Cancer Research* 72 (6): 1494–1503. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-3948.

Coates, A. S., E. P. Winer, A. Goldhirsch, R. D. Gelber, M. Gnant, M. Piccart-Gebhart, B. Thürlimann, H.-J. Senn, and Panel members. 2015. "Tailoring Therapies - Improving the Management of Early Breast Cancer: St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2015." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, May. doi:10.1093/annonc/mdv221.

Cochrane, Dawn R., Sebastián Bernales, Britta M. Jacobsen, Diana M. Cittelly, Erin N. Howe, Nicholas C. D'Amato, Nicole S. Spoelstra, et al. 2014. "Role of the Androgen Receptor in Breast Cancer and Preclinical Analysis of Enzalutamide." *Breast Cancer Research: BCR* 16 (1): R7. doi:10.1186/bcr3599.

Colleoni, M., N. Rotmensz, P. Maisonneuve, M. G. Mastropasqua, A. Luini, P. Veronesi, M. Intra, et al. 2012. "Outcome of Special Types of Luminal Breast Cancer." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 23 (6): 1428–36. doi:10.1093/annonc/mdr461.

Collins, Laura C., Kimberly S. Cole, Jonathan D. Marotti, Rong Hu, Stuart J. Schnitt, and Rulla M. Tamimi. 2011. "Androgen Receptor Expression in Breast Cancer in Relation to Molecular Phenotype: Results from the Nurses' Health Study." *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 24 (7): 924–31. doi:10.1038/modpathol.2011.54.

Cops, Elisa J., Tina Bianco-Miotto, Nicole L. Moore, Christine L. Clarke, Stephen N. Birrell, Lisa M. Butler, and Wayne D. Tilley. 2008. "Antiproliferative Actions of the Synthetic Androgen, Mibolerone, in Breast Cancer Cells Are Mediated by Both Androgen and Progesterone Receptors." *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 110 (3–5): 236–43. doi:10.1016/j.jsbmb.2007.10.014.

Cortazar, Patricia, Lijun Zhang, Michael Untch, Keyur Mehta, Joseph P. Costantino, Norman Wolmark, Hervé Bonnefoi, et al. 2014. "Pathological Complete Response and Long-Term Clinical Benefit in Breast Cancer: The CTNeoBC Pooled Analysis." *Lancet (London, England)* 384 (9938): 164–72. doi:10.1016/S0140-6736(13)62422-8.

Criscitello, Carmen, Davide Disalvatore, Michele De Laurentiis, Lucia Gelao, Luca Fumagalli, Marzia Locatelli, Vincenzo Bagnardi, et al. 2014. "High Ki-67 Score Is Indicative of a Greater Benefit from Adjuvant Chemotherapy When Added to Endocrine Therapy in Luminal B HER2 Negative and Node-Positive Breast Cancer." *Breast (Edinburgh, Scotland)* 23 (1): 69–75. doi:10.1016/j.breast.2013.11.007.

Cuenca-López, María D., Juan C. Montero, Jorge C. Morales, Aleix Prat, Atanasio Pandiella, and Alberto Ocana. 2014. "Phospho-Kinase Profile of Triple Negative Breast Cancer and Androgen Receptor Signaling." *BMC Cancer* 14: 302. doi:10.1186/1471-2407-14-302.

Curtis, Christina, Sohrab P. Shah, Suet-Feung Chin, Gulisa Turashvili, Oscar M. Rueda, Mark J. Dunning, Doug Speed, et al. 2012. "The Genomic and Transcriptomic Architecture of 2,000 Breast Tumours Reveals Novel Subgroups." *Nature* 486 (7403): 346–52. doi:10.1038/nature10983.

Cuzick, Jack, Ivana Sestak, Michael Baum, Aman Buzdar, Anthony Howell, Mitch Dowsett, John F. Forbes, and ATAC/LATTE investigators. 2010. "Effect of Anastrozole and Tamoxifen as Adjuvant Treatment for Early-Stage Breast Cancer: 10-Year Analysis of the ATAC Trial." *The Lancet. Oncology* 11 (12): 1135–41. doi:10.1016/S1470-2045(10)70257-6.

Da Silva, Leonard, Suzanne Parry, Lynne Reid, Patricia Keith, Nic Waddell, Myriam Kossai, Catherine Clarke, Sunil R. Lakhani, and Peter T. Simpson. 2008. "Aberrant Expression of E-Cadherin in Lobular Carcinomas of the Breast." *The American Journal of Surgical Pathology* 32 (5): 773–83. doi:10.1097/PAS.0b013e318158d6c5.

Dabakuyo, T. S., F. Bonnetain, P. Roignot, M.-L. Poillot, G. Chaplain, T. Altwegg, G. Hedelin, and P. Arveux. 2008. "Population-Based Study of Breast Cancer Survival in Cote d'Or (France): Prognostic Factors and Relative Survival." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 19 (2): 276–83. doi:10.1093/annonc/mdm491.

Davies, Christina, Hongchao Pan, Jon Godwin, Richard Gray, Rodrigo Arriagada, Vinod Raina, Mirta Abraham, et al. 2013. "Long-Term Effects of Continuing Adjuvant Tamoxifen to 10 Years versus Stopping at 5 Years after Diagnosis of Oestrogen Receptor-Positive Breast Cancer: ATLAS, a Randomised Trial." *Lancet (London, England)* 381 (9869): 805–16. doi:10.1016/S0140-6736(12)61963-1.

De Amicis, Francesca, Janagi Thirugnansampanthan, Yukun Cui, Jennifer Selever, Amanda Beyer, Irma Parra, Nancy L. Weigel, et al. 2010. "Androgen Receptor Overexpression Induces Tamoxifen Resistance in Human Breast Cancer Cells." *Breast Cancer Research and Treatment* 121 (1): 1–11. doi:10.1007/s10549-009-0436-8.

de Azambuja, E., F. Cardoso, G. de Castro, M. Colozza, M. S. Mano, V. Durbecq, C. Sotiriou, D. Larsimont, M. J. Piccart-Gebhart, and M. Paesmans. 2007. "Ki-67 as Prognostic Marker in Early Breast Cancer: A Meta-Analysis of Published Studies Involving 12,155 Patients." *British*

*Journal of Cancer* 96 (10): 1504–13. doi:10.1038/sj.bjc.6603756.

de Mascarel, I., F. Bonichon, M. Durand, L. Mauriac, G. MacGrogan, I. Soubeyran, V. Picot, A. Avril, J. M. Coindre, and M. Trojani. 1998. "Obvious Peritumoral Emboli: An Elusive Prognostic Factor Reappraised. Multivariate Analysis of 1320 Node-Negative Breast Cancers." *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)* 34 (1): 58–65.

de Ronde, Jorma J., Juliane Hannemann, Hans Halfwerk, Lennart Mulder, Marieke E. Straver, Marie-Jeanne T. F. D. Vrancken Peeters, Jelle Wesseling, Marc van de Vijver, Lodewyk F. A. Wessels, and Sjoerd Rodenhuis. 2010. "Concordance of Clinical and Molecular Breast Cancer Subtyping in the Context of Preoperative Chemotherapy Response." *Breast Cancer Research and Treatment* 119 (1): 119–26. doi:10.1007/s10549-009-0499-6.

Dengel, Lynn T., Kimberly J. Van Zee, Tari A. King, Michelle Stempel, Hiram S. Cody, Mahmoud El-Tamer, Mary L. Gemignani, et al. 2014. "Axillary Dissection Can Be Avoided in the Majority of Clinically Node-Negative Patients Undergoing Breast-Conserving Therapy." *Annals of Surgical Oncology* 21 (1): 22–27. doi:10.1245/s10434-013-3200-6.

Desmedt, Christine, Benjamin Haibe-Kains, Pratyaksha Wirapati, Marc Buyse, Denis Larsimont, Gianluca Bontempi, Mauro Delorenzi, Martine Piccart, and Christos Sotiriou. 2008. "Biological Processes Associated with Breast Cancer Clinical Outcome Depend on the Molecular Subtypes." *Clinical Cancer Research* 14 (16): 5158–65. doi:10.1158/1078-0432.CCR-07-4756.

Doane, A. S., M. Danso, P. Lal, M. Donaton, L. Zhang, C. Hudis, and W. L. Gerald. 2006. "An Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer Subset Characterized by a Hormonally Regulated Transcriptional Program and Response to Androgen." *Oncogene* 25 (28): 3994–4008. doi:10.1038/sj.onc.1209415.

Dowsett, Mitch, Torsten O. Nielsen, Roger A'Hern, John Bartlett, R. Charles Coombes, Jack Cuzick, Matthew Ellis, et al. 2011. "Assessment of Ki67 in Breast Cancer: Recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer Working Group." *Journal of the National Cancer Institute* 103 (22): 1656–64. doi:10.1093/jnci/djr393.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), S. Darby, P. McGale, C. Correa, C. Taylor, R. Arriagada, M. Clarke, et al. 2011. "Effect of Radiotherapy after Breast-Conserving Surgery on 10-Year Recurrence and 15-Year Breast Cancer Death: Meta-Analysis of Individual Patient Data for 10,801 Women in 17 Randomised Trials." *Lancet (London, England)* 378 (9804): 1707–16. doi:10.1016/S0140-6736(11)61629-2.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), C. Davies, J. Godwin, R. Gray, M. Clarke, D. Cutter, S. Darby, et al. 2011. "Relevance of Breast Cancer Hormone Receptors and Other Factors to the Efficacy of Adjuvant Tamoxifen: Patient-Level Meta-Analysis of Randomised Trials." *Lancet (London, England)* 378 (9793): 771–84. doi:10.1016/S0140-6736(11)60993-8.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), R. Peto, C. Davies, J. Godwin, R. Gray, H. C. Pan, M. Clarke, et al. 2012. "Comparisons between Different Polychemotherapy Regimens for Early Breast Cancer: Meta-Analyses of Long-Term Outcome among 100,000 Women in 123 Randomised Trials." *Lancet (London, England)* 379 (9814): 432–44. doi:10.1016/S0140-6736(11)61625-5.

EBCTCG (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group), P. McGale, C. Taylor, C. Correa, D. Cutter, F. Duane, M. Ewertz, et al. 2014. "Effect of Radiotherapy after Mastectomy and Axillary Surgery on 10-Year Recurrence and 20-Year Breast Cancer Mortality: Meta-Analysis of Individual Patient Data for 8135 Women in 22 Randomised Trials." *Lancet (London, England)* 383 (9935): 2127–35. doi:10.1016/S0140-6736(14)60488-8.

Elloumi, Fathi, Zhiyuan Hu, Yan Li, Joel S. Parker, Margaret L. Gulley, Keith D. Amos, and Melissa A. Troester. 2011. "Systematic Bias in Genomic Classification due to Contaminating Non-Neoplastic Tissue in Breast Tumor Samples." *BMC Medical Genomics* 4: 54. doi:10.1186/1755-8794-4-54.

Elston, C. W., and I. O. Ellis. 1991. "Pathological Prognostic Factors in Breast Cancer. I. The Value of Histological Grade in Breast Cancer: Experience from a Large Study with Long-Term Follow-Up." *Histopathology* 19 (5): 403–10.

Esserman, Laura J., Donald A. Berry, Maggie C. U. Cheang, Christina Yau, Charles M. Perou, Lisa Carey, Angela DeMichele, et al. 2012. "Chemotherapy Response and Recurrence-Free Survival in Neoadjuvant Breast Cancer Depends on Biomarker Profiles: Results from the I-SPY 1 TRIAL (CALGB 150007/150012; ACRIN 6657)." *Breast Cancer Research and Treatment* 132 (3): 1049–62. doi:10.1007/s10549-011-1895-2.

Farmer, Pierre, Herve Bonnefoi, Veronique Becette, Michele Tubiana-Hulin, Pierre Fumoleau, Denis Larsimont, Gaetan Macgrogan, et al. 2005. "Identification of Molecular Apocrine Breast Tumours by Microarray Analysis." *Oncogene* 24 (29): 4660–71. doi:10.1038/sj.onc.1208561.

Ferlay, J., E. Steliarova-Foucher, J. Lortet-Tieulent, S. Rosso, J. W. W. Coebergh, H. Comber,

D. Forman, and F. Bray. 2013. "Cancer Incidence and Mortality Patterns in Europe: Estimates for 40 Countries in 2012." *European Journal of Cancer* 49 (6): 1374–1403.

doi:10.1016/j.ejca.2012.12.027.

Fitzgibbons, P. L., D. L. Page, D. Weaver, A. D. Thor, D. C. Allred, G. M. Clark, S. G. Ruby, et al. 2000. "Prognostic Factors in Breast Cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999." *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 124 (7): 966–78.

doi:10.1043/0003-9985(2000)124<0966:PFIBC>2.0.CO;2.

Fizazi, Karim, Howard I Scher, Arturo Molina, Christopher J Logothetis, Kim N Chi, Robert J Jones, John N Staffurth, et al. 2012. "Abiraterone Acetate for Treatment of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Final Overall Survival Analysis of the COU-AA-301 Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 3 Study." *The Lancet Oncology* 13 (10): 983–92. doi:10.1016/S1470-2045(12)70379-0.

Francis, Prudence A., Meredith M. Regan, Gini F. Fleming, István Láng, Eva Ciruelos, Meritxell Bellet, Hervé R. Bonnefoi, et al. 2015. "Adjuvant Ovarian Suppression in Premenopausal Breast Cancer." *New England Journal of Medicine* 372 (5): 436–46.

doi:10.1056/NEJMoa1412379.

Friedland, Julie C., Donald L. Smith, Jim Sang, Jaime Acquaviva, Suqin He, Chaohua Zhang, and David A. Proia. 2014. "Targeted Inhibition of Hsp90 by Ganetespib Is Effective across a Broad Spectrum of Breast Cancer Subtypes." *Investigational New Drugs* 32 (1): 14–24.

doi:10.1007/s10637-013-9971-6.

Gatalica, Z. 1997. "Immunohistochemical Analysis of Apocrine Breast Lesions. Consistent over-Expression of Androgen Receptor Accompanied by the Loss of Estrogen and Progesterone Receptors in Apocrine Metaplasia and Apocrine Carcinoma in Situ."

*Pathology, Research and Practice* 193 (11–12): 753–58. doi:10.1016/S0344-0338(97)80053-2.

Gelmann, Edward P. 2002. "Molecular Biology of the Androgen Receptor." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 20 (13): 3001–15.

Gerdes, J., H. Lemke, H. Baisch, H. H. Wacker, U. Schwab, and H. Stein. 1984. "Cell Cycle Analysis of a Cell Proliferation-Associated Human Nuclear Antigen Defined by the Monoclonal Antibody Ki-67." *The Journal of Immunology* 133 (4): 1710–15.

Gianni, Luca, Wolfgang Eiermann, Vladimir Semiglazov, Alexey Manikhas, Ana Lluch, Sergey Tjulandin, Milvia Zambetti, et al. 2010. "Neoadjuvant Chemotherapy with Trastuzumab

Followed by Adjuvant Trastuzumab versus Neoadjuvant Chemotherapy Alone, in Patients with HER2-Positive Locally Advanced Breast Cancer (the NOAH Trial): A Randomised Controlled Superiority Trial with a Parallel HER2-Negative Cohort." *Lancet (London, England)* 375 (9712): 377–84. doi:10.1016/S0140-6736(09)61964-4.

Gianni, Luca, Tadeusz Pienkowski, Young-Hyuck Im, Ling-Ming Tseng, Mei-Ching Liu, Ana Lluch, Elżbieta Starosławska, et al. 2016. "5-Year Analysis of Neoadjuvant Pertuzumab and Trastuzumab in Patients with Locally Advanced, Inflammatory, or Early-Stage HER2-Positive Breast Cancer (NeoSphere): A Multicentre, Open-Label, Phase 2 Randomised Trial." *The Lancet. Oncology* 17 (6): 791–800. doi:10.1016/S1470-2045(16)00163-7.

Gillatt, David. 2006. "Antiandrogen Treatments in Locally Advanced Prostate Cancer: Are They All the Same?" *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* 132 (1): 17–26. doi:10.1007/s00432-006-0133-5.

Goldhirsch, A., E. P. Winer, A. S. Coates, R. D. Gelber, M. Piccart-Gebhart, B. Thürlimann, H.-J. Senn, and Panel members. 2013. "Personalizing the Treatment of Women with Early Breast Cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 24 (9): 2206–23. doi:10.1093/annonc/mdt303.

Goldhirsch, A., W. C. Wood, A. S. Coates, R. D. Gelber, B. Thürlimann, H.-J. Senn, and Panel members. 2011. "Strategies for Subtypes--Dealing with the Diversity of Breast Cancer: Highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 22 (8): 1736–47. doi:10.1093/annonc/mdr304.

Gonzalez-Angulo, Ana M., Katherine Stemke-Hale, Shana L. Palla, Mark Carey, Roshan Agarwal, Funda Meric-Berstam, Tiffany A. Traina, et al. 2009. "Androgen Receptor Levels and Association with PIK3CA Mutations and Prognosis in Breast Cancer." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 15 (7): 2472–78. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1763.

Goss, Paul E., James N. Ingle, Kathleen I. Pritchard, Nicholas J. Robert, Hyman Muss, Julie Gralow, Karen Gelmon, et al. 2016. "Extending Aromatase-Inhibitor Adjuvant Therapy to 10 Years." *The New England Journal of Medicine* 375 (3): 209–19. doi:10.1056/NEJMoa1604700.

Gucalp, Ayca, Sara Tolaney, Steven J. Isakoff, James N. Ingle, Minetta C. Liu, Lisa A. Carey,

Kimberly Blackwell, et al. 2013. "Phase II Trial of Bicalutamide in Patients with Androgen Receptor-Positive, Estrogen Receptor-Negative Metastatic Breast Cancer." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19 (19): 5505–12. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-3327.

Guedj, M., L. Marisa, A. de Reynies, B. Orsetti, R. Schiappa, F. Bibeau, G. MacGrogan, et al. 2012. "A Refined Molecular Taxonomy of Breast Cancer." *Oncogene* 31 (9): 1196–1206. doi:10.1038/onc.2011.301.

Guiu, S., S. Michiels, F. André, J. Cortes, C. Denkert, A. Di Leo, B. T. Hennessy, et al. 2012. "Molecular Subclasses of Breast Cancer: How Do We Define Them? The IMPAKT 2012 Working Group Statement." *Annals of Oncology* 23 (12): 2997–3006. doi:10.1093/annonc/mds586.

Haibe-Kains, Benjamin, Christine Desmedt, Sherene Loi, Aedin C. Culhane, Gianluca Bontempi, John Quackenbush, and Christos Sotiriou. 2012. "A Three-Gene Model to Robustly Identify Breast Cancer Molecular Subtypes." *Journal of the National Cancer Institute* 104 (4): 311–25. doi:10.1093/jnci/djr545.

Hammond, M. Elizabeth H., Daniel F. Hayes, Mitch Dowsett, D. Craig Allred, Karen L. Hagerty, Sunil Badve, Patrick L. Fitzgibbons, et al. 2010. "American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 28 (16): 2784–95. doi:10.1200/JCO.2009.25.6529.

Hara, Takahito, Jun-ichi Miyazaki, Hideo Araki, Masuo Yamaoka, Naoyuki Kanzaki, Masami Kusaka, and Masaomi Miyamoto. 2003. "Novel Mutations of Androgen Receptor: A Possible Mechanism of Bicalutamide Withdrawal Syndrome." *Cancer Research* 63 (1): 149–53.

He, Jiehua, Roujun Peng, Zhongyu Yuan, Shusen Wang, Jiewen Peng, Guinan Lin, Xiaomei Jiang, and Tao Qin. 2012. "Prognostic Value of Androgen Receptor Expression in Operable Triple-Negative Breast Cancer: A Retrospective Analysis Based on a Tissue Microarray." *Medical Oncology (Northwood, London, England)* 29 (2): 406–10. doi:10.1007/s12032-011-9832-0.

Hennessy, Bryan T., Ana-Maria Gonzalez-Angulo, Katherine Stemke-Hale, Michael Z. Gilcrease, Savitri Krishnamurthy, Ju-Seog Lee, Jane Fridlyand, et al. 2009. "Characterization of a Naturally Occurring Breast Cancer Subset Enriched in Epithelial-to-Mesenchymal

Transition and Stem Cell Characteristics." *Cancer Research* 69 (10): 4116–24.

doi:10.1158/0008-5472.CAN-08-3441.

Herschkowitz, Jason I., Karl Simin, Victor J. Weigman, Igor Mikaelian, Jerry Usary, Zhiyuan Hu, Karen E. Rasmussen, et al. 2007. "Identification of Conserved Gene Expression Features between Murine Mammary Carcinoma Models and Human Breast Tumors." *Genome Biology* 8 (5): R76. doi:10.1186/gb-2007-8-5-r76.

Hershman, Dawn L., Lawrence H. Kushi, Theresa Shao, Donna Buono, Aaron Kershenbaum, Wei-Yann Tsai, Louis Fehrenbacher, Scarlett Lin Gomez, Sunita Miles, and Alfred I. Neugut. 2010. "Early Discontinuation and Nonadherence to Adjuvant Hormonal Therapy in a Cohort of 8,769 Early-Stage Breast Cancer Patients." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 28 (27): 4120–28. doi:10.1200/JCO.2009.25.9655.

Houssami, Nehmat, and Monica Morrow. 2014. "Margins in Breast Conservation: A Clinician's Perspective and What the Literature Tells Us." *Journal of Surgical Oncology* 110 (1): 2–7. doi:10.1002/jso.23594.

Hu, Rong, Shaheenah Dawood, Michelle D. Holmes, Laura C. Collins, Stuart J. Schnitt, Kimberley Cole, Jonathan D. Marotti, Susan E. Hankinson, Graham A. Colditz, and Rulla M. Tamimi. 2011. "Androgen Receptor Expression and Breast Cancer Survival in Postmenopausal Women." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 17 (7): 1867–74. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-2021.

Hu, Zhiyuan, Cheng Fan, Daniel S Oh, JS Marron, Xiaping He, Bahjat F Qaqish, Chad Livasy, et al. 2006. "The Molecular Portraits of Breast Tumors Are Conserved across Microarray Platforms." *BMC Genomics* 7 (April): 96. doi:10.1186/1471-2164-7-96.

Hudis, Clifford A., William E. Barlow, Joseph P. Costantino, Robert J. Gray, Kathleen I. Pritchard, Judith-Anne W. Chapman, Joseph A. Sparano, et al. 2007. "Proposal for Standardized Definitions for Efficacy End Points in Adjuvant Breast Cancer Trials: The STEEP System." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 25 (15): 2127–32. doi:10.1200/JCO.2006.10.3523.

Hugh, Judith, John Hanson, Maggie Chon U. Cheang, Torsten O. Nielsen, Charles M. Perou, Charles Dumontet, John Reed, et al. 2009. "Breast Cancer Subtypes and Response to Docetaxel in Node-Positive Breast Cancer: Use of an Immunohistochemical Definition in the BCIRG 001 Trial." *Journal of Clinical Oncology* 27 (8): 1168–76.

doi:10.1200/JCO.2008.18.1024.

Iggo, Richard D. 2011. "New Insights into the Role of Androgen and Oestrogen Receptors in Molecular Apocrine Breast Tumours." *Breast Cancer Research: BCR* 13 (6): 318.

doi:10.1186/bcr3036.

Iwamoto, Takayuki, Daniel Booser, Vicente Valero, James L. Murray, Kimberly Koenig, Francisco J. Esteva, Naoto T. Ueno, et al. 2012. "Estrogen Receptor (ER) mRNA and ER-Related Gene Expression in Breast Cancers That Are 1% to 10% ER-Positive by Immunohistochemistry." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 30 (7): 729–34. doi:10.1200/JCO.2011.36.2574.

Kadoch, Cigall, Diana C. Hargreaves, Courtney Hodges, Laura Elias, Lena Ho, Jeff Ranish, and Gerald R. Crabtree. 2013. "Proteomic and Bioinformatic Analysis of Mammalian SWI/SNF Complexes Identifies Extensive Roles in Human Malignancy." *Nature Genetics* 45 (6): 592–601. doi:10.1038/ng.2628.

Kastner, P., A. Krust, B. Turcotte, U. Stropp, L. Tora, H. Gronemeyer, and P. Chambon. 1990. "Two Distinct Estrogen-Regulated Promoters Generate Transcripts Encoding the Two Functionally Different Human Progesterone Receptor Forms A and B." *The EMBO Journal* 9 (5): 1603–14.

Klauschen, Frederick, Stephan Wienert, Wolfgang D. Schmitt, Sibylle Loibl, Bernd Gerber, Jens-Uwe Blohmer, Jens Huober, et al. 2014. "Standardized Ki67 Diagnostics Using Automated Scoring-Clinical Validation in the GeparTrio Breast Cancer Study." *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, December. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1283.

Kononen, J., L. Bubendorf, A. Kallioniemi, M. Bärlund, P. Schraml, S. Leighton, J. Torhorst, M. J. Mihatsch, G. Sauter, and O. P. Kallioniemi. 1998. "Tissue Microarrays for High-Throughput Molecular Profiling of Tumor Specimens." *Nature Medicine* 4 (7): 844–47.

Korn, E. L., M. C. Sachs, and L. M. McShane. 2016. "Statistical Controversies in Clinical Research: Assessing Pathologic Complete Response as a Trial-Level Surrogate End Point for Early-Stage Breast Cancer." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 27 (1): 10–15. doi:10.1093/annonc/mdv507.

Korpala, Manav, Joshua M. Korn, Xueliang Gao, Daniel P. Rakić, David A. Ruddy, Shivang Doshi, Jing Yuan, et al. 2013. "An F876L Mutation in Androgen Receptor Confers Genetic and Phenotypic Resistance to MDV3100 (Enzalutamide)." *Cancer Discovery* 3 (9): 1030–43. doi:10.1158/2159-8290.CD-13-0142.

Kraus, James A., David J. Dabbs, Sushil Beriwal, and Rohit Bhargava. 2012. "Semi-Quantitative Immunohistochemical Assay versus Oncotype DX(®) qRT-PCR Assay for Estrogen and Progesterone Receptors: An Independent Quality Assurance Study." *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 25 (6): 869–76. doi:10.1038/modpathol.2011.219.

Kumar, V., S. Green, G. Stack, M. Berry, J. R. Jin, and P. Chambon. 1987. "Functional Domains of the Human Estrogen Receptor." *Cell* 51 (6): 941–51.

Lakhani, Sunil R., International Agency for Research on Cancer, and World Health Organization, eds. 2012. *WHO Classification of Tumours of the Breast*. 4th ed. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

Lakis, Sotiris, Vassiliki Kotoula, Anastasia G. Eleftheraki, Anna Batistatou, Mattheos Bobos, Triantafyllia Koletsa, Eleni Timotheadou, et al. 2014. "The Androgen Receptor as a Surrogate Marker for Molecular Apocrine Breast Cancer Subtyping." *Breast (Edinburgh, Scotland)* 23 (3): 234–43. doi:10.1016/j.breast.2014.02.013.

Lee, A. H. S., S. E. Pinder, R. D. Macmillan, M. Mitchell, I. O. Ellis, C. W. Elston, and R. W. Blamey. 2006. "Prognostic Value of Lymphovascular Invasion in Women with Lymph Node Negative Invasive Breast Carcinoma." *European Journal of Cancer* 42 (3): 357–62. doi:10.1016/j.ejca.2005.10.021.

Lee, H.-J., and C. Chang. 2003. "Recent Advances in Androgen Receptor Action." *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS* 60 (8): 1613–22. doi:10.1007/s00018-003-2309-3.

Lehmann, Brian D., Joshua A. Bauer, Xi Chen, Melinda E. Sanders, A. Bapsi Chakravarthy, Yu Shyr, and Jennifer A. Pietenpol. 2011. "Identification of Human Triple-Negative Breast Cancer Subtypes and Preclinical Models for Selection of Targeted Therapies." *The Journal of Clinical Investigation* 121 (7): 2750–67. doi:10.1172/JCI45014.

Lehmann, Brian D., Joshua A. Bauer, Johanna M. Schafer, Christopher S. Pendleton, Luojia Tang, Kimberly C. Johnson, Xi Chen, et al. 2014. "PIK3CA Mutations in Androgen Receptor-Positive Triple Negative Breast Cancer Confer Sensitivity to the Combination of PI3K and Androgen Receptor Inhibitors." *Breast Cancer Research: BCR* 16 (4): 406. doi:10.1186/s13058-014-0406-x.

Lehmann-Che, Jacqueline, Anne-Sophie Hamy, Raphaël Porcher, Marc Barritault, Fatiha Bouhidel, Hanadi Habuellelah, Solenne Leman-Detours, et al. 2013. "Molecular Apocrine Breast Cancers Are Aggressive Estrogen Receptor Negative Tumors Overexpressing Either

HER2 or GCDP15." *Breast Cancer Research: BCR* 15 (3): R37. doi:10.1186/bcr3421.

"Les Données - Institut National Du Cancer." 2015. Accessed August 3. <http://lesdonnees.e-cancer.fr/les-fiches-de-synthese/1-types-cancer/9-cancer-sein/1-incidence-mortalite-france-cancer-sein.html>.

Liedtke, Cornelia, Chafika Mazouni, Kenneth R. Hess, Fabrice André, Attila Tordai, Jaime A. Mejia, W. Fraser Symmans, et al. 2008. "Response to Neoadjuvant Therapy and Long-Term Survival in Patients with Triple-Negative Breast Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 26 (8): 1275–81.

doi:10.1200/JCO.2007.14.4147.

Lim, Elgene, Min Ni, Shiliang Cao, Aditi Hazra, Rulla M. Tamimi, and Myles Brown. 2014. "Importance of Breast Cancer Subtype in the Development of Androgen Receptor Directed Therapy." *Current Breast Cancer Reports* 6 (2): 71–78. doi:10.1007/s12609-014-0140-5.

Lim, Elgene, François Vaillant, Di Wu, Natasha C. Forrest, Bhupinder Pal, Adam H. Hart, Marie-Liesse Asselin-Labat, et al. 2009. "Aberrant Luminal Progenitors as the Candidate Target Population for Basal Tumor Development in BRCA1 Mutation Carriers." *Nature Medicine* 15 (8): 907–13. doi:10.1038/nm.2000.

Loi, Sherene, Benjamin Haibe-Kains, Christine Desmedt, Françoise Lallemand, Andrew M. Tutt, Cheryl Gillet, Paul Ellis, et al. 2007. "Definition of Clinically Distinct Molecular Subtypes in Estrogen Receptor–Positive Breast Carcinomas Through Genomic Grade." *Journal of Clinical Oncology* 25 (10): 1239–46. doi:10.1200/JCO.2006.07.1522.

Loibl, Sibylle, Berit Maria Müller, Gunter von Minckwitz, Michael Schwabe, Marc Roller, Silvia Darb-Esfahani, Beyhan Ataseven, et al. 2011. "Androgen Receptor Expression in Primary Breast Cancer and Its Predictive and Prognostic Value in Patients Treated with Neoadjuvant Chemotherapy." *Breast Cancer Research and Treatment* 130 (2): 477–87. doi:10.1007/s10549-011-1715-8.

Loo, M. van der Heiden-van der, M. Schaapveld, V. K. Y. Ho, S. Siesling, E. J. T. Rutgers, and P. H. M. Peeters. 2013. "Outcomes of a Population-Based Series of Early Breast Cancer Patients with Micrometastases and Isolated Tumour Cells in Axillary Lymph Nodes." *Annals of Oncology* 24 (11): 2794–2801. doi:10.1093/annonc/mdt243.

Macedo, Luciana F., Zhiyong Guo, Syreeta L. Tilghman, Gauri J. Sabnis, Yun Qiu, and Angela Brodie. 2006. "Role of Androgens on MCF-7 Breast Cancer Cell Growth and on the Inhibitory Effect of Letrozole." *Cancer Research* 66 (15): 7775–82. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-

3984.

MacGrogan, Gaëtan, Marie-Christine Mathieu, Bruno Poulet, Frédérique Penault-Llorca, Anne Vincent-Salomon, Pascal Roger, Isabelle Treilleux, et al. 2014. “[Pre-analytical stage for biomarker assessment in breast cancer: 2014 update of the GEFPICS’ guidelines in France].” *Annales De Pathologie* 34 (5): 366–72. doi:10.1016/j.annpat.2014.08.017.

Mackay, Alan, Britta Weigelt, Anita Grigoriadis, Bas Kreike, Rachael Natrajan, Roger A’Hern, David S. P. Tan, Mitch Dowsett, Alan Ashworth, and Jorge S. Reis-Filho. 2011. “Microarray-Based Class Discovery for Molecular Classification of Breast Cancer: Analysis of Interobserver Agreement.” *Journal of the National Cancer Institute* 103 (8): 662–73. doi:10.1093/jnci/djr071.

Marty, Michel, Francesco Cognetti, Dominique Maraninchi, Ray Snyder, Louis Mauriac, Michèle Tubiana-Hulin, Stephen Chan, et al. 2005. “Randomized Phase II Trial of the Efficacy and Safety of Trastuzumab Combined with Docetaxel in Patients with Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Metastatic Breast Cancer Administered as First-Line Treatment: The M77001 Study Group.” *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 23 (19): 4265–74. doi:10.1200/JCO.2005.04.173.

Masuda, Hiroko, Keith A. Baggerly, Ying Wang, Ya Zhang, Ana Maria Gonzalez-Angulo, Funda Meric-Bernstam, Vicente Valero, et al. 2013. “Differential Response to Neoadjuvant Chemotherapy among 7 Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes.” *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19 (19): 5533–40. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0799.

McNamara, K. M., T. Yoda, K. Takagi, Y. Miki, T. Suzuki, and H. Sasano. 2013. “Androgen Receptor in Triple Negative Breast Cancer.” *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 133 (January): 66–76. doi:10.1016/j.jsbmb.2012.08.007.

Micello, Donata, Alessandro Marando, Nora Sahnane, Cristina Riva, Carlo Capella, and Fausto Sessa. 2010. “Androgen Receptor Is Frequently Expressed in HER2-Positive, ER/PR-Negative Breast Cancers.” *Virchows Archiv: An International Journal of Pathology* 457 (4): 467–76. doi:10.1007/s00428-010-0964-y.

Mieog, J. S. D., J. A. van der Hage, and C. J. H. van de Velde. 2007. “Preoperative Chemotherapy for Women with Operable Breast Cancer.” *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, no. 2: CD005002. doi:10.1002/14651858.CD005002.pub2.

Milanes-Yearsley, Martha, M. Elizabeth H. Hammond, Thomas F. Pajak, Jay S. Cooper, Chu

Chang, Thomas Griffin, Diana Nelson, George Laramore, and Milijenko Pilepich. 2002. "Tissue Micro-Array: A Cost and Time-Effective Method for Correlative Studies by Regional and National Cancer Study Groups." *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 15 (12): 1366–73. doi:10.1097/01.MP.0000036345.18944.22.

Mills, Anne M., Chelsea E Gottlieb, Scott M Wendroth, Christiana M Brenin, and Kristen A. Atkins. 2016. "Pure Apocrine Carcinomas Represent a Clinicopathologically Distinct Androgen Receptor-Positive Subset of Triple-Negative Breast Cancers." *The American Journal of Surgical Pathology* 40 (8): 1109–16. doi:10.1097/PAS.0000000000000671.

Minckwitz, Gunter von, Michael Untch, Jens-Uwe Blohmer, Serban D. Costa, Holger Eidtmann, Peter A. Fasching, Bernd Gerber, et al. 2012. "Definition and Impact of Pathologic Complete Response on Prognosis After Neoadjuvant Chemotherapy in Various Intrinsic Breast Cancer Subtypes." *Journal of Clinical Oncology* 30 (15): 1796–1804. doi:10.1200/JCO.2011.38.8595.

Mohammed, Hisham, I. Alasdair Russell, Rory Stark, Oscar M. Rueda, Theresa E. Hickey, Gerard A. Tarulli, Aurelien A. Serandour, et al. 2015. "Progesterone Receptor Modulates ER $\alpha$  Action in Breast Cancer." *Nature* 523 (7560): 313–17. doi:10.1038/nature14583.

Moilanen, Anu-Maarit, Reetta Riikonen, Riikka Oksala, Laura Ravanti, Eija Aho, Gerd Wohlfahrt, Pirjo S. Nykänen, Olli P. Törmäkangas, Jorma J. Palvimo, and Pekka J. Kallio. 2015. "Discovery of ODM-201, a New-Generation Androgen Receptor Inhibitor Targeting Resistance Mechanisms to Androgen Signaling-Directed Prostate Cancer Therapies." *Scientific Reports* 5: 12007. doi:10.1038/srep12007.

Naderi, Ali, Kee Ming Chia, and Ji Liu. 2011. "Synergy between Inhibitors of Androgen Receptor and MEK Has Therapeutic Implications in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer." *Breast Cancer Research: BCR* 13 (2): R36. doi:10.1186/bcr2858.

Naderi, Ali, and Luke Hughes-Davies. 2008. "A Functionally Significant Cross-Talk between Androgen Receptor and ErbB2 Pathways in Estrogen Receptor Negative Breast Cancer." *Neoplasia (New York, N.Y.)* 10 (6): 542–48.

Narod, S. A. 2012. "Tumour Size Predicts Long-Term Survival among Women with Lymph Node-Positive Breast Cancer." *Current Oncology (Toronto, Ont.)* 19 (5): 249–53. doi:10.3747/co.19.1043.

Ni, Min, Yiwen Chen, Teng Fei, Dan Li, Elgene Lim, X. Shirley Liu, and Myles Brown. 2013.

“Amplitude Modulation of Androgen Signaling by c-MYC.” *Genes & Development* 27 (7): 734–48. doi:10.1101/gad.209569.112.

Ni, Min, Yiwen Chen, Elgene Lim, Hallie Wimberly, Shannon T. Bailey, Yuuki Imai, David L. Rimm, X. Shirley Liu, and Myles Brown. 2011. “Targeting Androgen Receptor in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer.” *Cancer Cell* 20 (1): 119–31. doi:10.1016/j.ccr.2011.05.026.

Nielsen, Torsten O., Forrest D. Hsu, Kristin Jensen, Maggie Cheang, Gamze Karaca, Zhiyuan Hu, Tina Hernandez-Boussard, et al. 2004. “Immunohistochemical and Clinical Characterization of the Basal-like Subtype of Invasive Breast Carcinoma.” *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 10 (16): 5367–74. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-0220.

Nielsen, Torsten O., Joel S. Parker, Samuel Leung, David Voduc, Mark Ebbert, Tammi Vickery, Sherri R. Davies, et al. 2010. “A Comparison of PAM50 Intrinsic Subtyping with Immunohistochemistry and Clinical Prognostic Factors in Tamoxifen-Treated Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer.” *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 16 (21): 5222–32. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-1282.

Niemeier, Leo A., David J. Dabbs, Sushil Beriwal, Joan M. Striebel, and Rohit Bhargava. 2010. “Androgen Receptor in Breast Cancer: Expression in Estrogen Receptor-Positive Tumors and in Estrogen Receptor-Negative Tumors with Apocrine Differentiation.” *Modern Pathology: An Official Journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 23 (2): 205–12. doi:10.1038/modpathol.2009.159.

Njar, Vincent C. O., and Angela M. H. Brodie. 2015. “Discovery and Development of Galeterone (TOK-001 or VN/124-1) for the Treatment of All Stages of Prostate Cancer.” *Journal of Medicinal Chemistry* 58 (5): 2077–87. doi:10.1021/jm501239f.

O’Shaughnessy, Joyce, Mario Campone, Etienne Brain, Patrick Neven, Daniel F. Hayes, Igor Bondarenko, Thomas W. Griffin, et al. 2014. “Randomized Phase 2 Study of Abiraterone Acetate (AA) with or without Exemestane (E) in Postmenopausal Patients (Pts) with Estrogen Receptor–positive (ER+) Metastatic Breast Cancer (MBC).” *Journal of Clinical Oncology* 32:5s (suppl; abstr 519). <http://meetinglibrary.asco.org/content/129267-144>.

Pagani, Olivia, Meredith M. Regan, Barbara A. Walley, Gini F. Fleming, Marco Colleoni, István Láng, Henry L. Gomez, et al. 2014. “Adjuvant Exemestane with Ovarian Suppression in

Premenopausal Breast Cancer." *New England Journal of Medicine* 371 (2): 107–18.  
doi:10.1056/NEJMoa1404037.

Park, S., J. Koo, H. S. Park, J.-H. Kim, S.-Y. Choi, J. H. Lee, B.-W. Park, and K. S. Lee. 2010. "Expression of Androgen Receptors in Primary Breast Cancer." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 21 (3): 488–92.  
doi:10.1093/annonc/mdp510.

Park, S., J. S. Koo, M. S. Kim, H. S. Park, J. S. Lee, J. S. Lee, S. I. Kim, B. W. Park, and K. S. Lee. 2011. "Androgen Receptor Expression Is Significantly Associated with Better Outcomes in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancers." *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 22 (8): 1755–62.  
doi:10.1093/annonc/mdq678.

Parker, Joel S., Michael Mullins, Maggie C.U. Cheang, Samuel Leung, David Voduc, Tammi Vickery, Sherri Davies, et al. 2009. "Supervised Risk Predictor of Breast Cancer Based on Intrinsic Subtypes." *Journal of Clinical Oncology* 27 (8): 1160–67.  
doi:10.1200/JCO.2008.18.1370.

Parker, Joel S., Amy C. Peterson, Iulia Cristina Tudor, Jennifer Hoffman, and Hirdesh Uppal. 2015. "A Novel Biomarker to Predict Sensitivity to Enzalutamide (ENZA) in TNBC." *Journal of Clinical Oncology* 33 (suppl; abstr 1083). <http://meetinglibrary.asco.org/content/150218-156>.

Penault-Llorca, Frédérique, Anne Vincent-Salomon, Gaëtan MacGrogan, Pascal Roger, Isabelle Treilleux, Alexander Valent, Marie-Christine Mathieu, et al. 2014. "Mise À Jour 2014 Des Recommandations Du GEFPICS Pour L'évaluation Du Statut HER2 Dans Les Cancers Du Sein En France." *Annales de Pathologie* 34 (5): 352–65. doi:10.1016/j.annpat.2014.08.018.

Perou, C. M., T. Sørli, M. B. Eisen, M. van de Rijn, S. S. Jeffrey, C. A. Rees, J. R. Pollack, et al. 2000. "Molecular Portraits of Human Breast Tumours." *Nature* 406 (6797): 747–52.  
doi:10.1038/35021093.

Perou, Charles M., Therese Sørli, Michael B. Eisen, Matt van de Rijn, Stefanie S. Jeffrey, Christian A. Rees, Jonathan R. Pollack, et al. 2000. "Molecular Portraits of Human Breast Tumours." *Nature* 406 (6797): 747–52. doi:10.1038/35021093.

Perreard, Laurent, Cheng Fan, John F. Quackenbush, Michael Mullins, Nicholas P. Gauthier, Edward Nelson, Mary Mone, et al. 2006. "Classification and Risk Stratification of Invasive Breast Carcinomas Using a Real-Time Quantitative RT-PCR Assay." *Breast Cancer Research:*

BCR 8 (2): R23. doi:10.1186/bcr1399.

Peters, Amelia A., Grant Buchanan, Carmela Ricciardelli, Tina Bianco-Miotto, Margaret M. Centenera, Jonathan M. Harris, Shalini Jindal, et al. 2009. "Androgen Receptor Inhibits Estrogen Receptor-Alpha Activity and Is Prognostic in Breast Cancer." *Cancer Research* 69 (15): 6131–40. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-0452.

Piccart-Gebhart, Martine J., Marion Procter, Brian Leyland-Jones, Aron Goldhirsch, Michael Untch, Ian Smith, Luca Gianni, et al. 2005. "Trastuzumab after Adjuvant Chemotherapy in HER2-Positive Breast Cancer." *The New England Journal of Medicine* 353 (16): 1659–72. doi:10.1056/NEJMoa052306.

Prat, Aleix, Joel S Parker, Olga Karginova, Cheng Fan, Chad Livasy, Jason I Herschkowitz, Xiaping He, and Charles M Perou. 2010. "Phenotypic and Molecular Characterization of the Claudin-Low Intrinsic Subtype of Breast Cancer." *Breast Cancer Research : BCR* 12 (5): R68. doi:10.1186/bcr2635.

Proverbs-Singh, Tracy, Jarett L. Feldman, Michael J. Morris, Karen A. Autio, and Tiffany A. Traina. 2015. "Targeting the Androgen Receptor in Prostate and Breast Cancer: Several New Agents in Development." *Endocrine-Related Cancer* 22 (3): R87–106. doi:10.1530/ERC-14-0543.

Prowell, Tatiana M., and Richard Pazdur. 2012. "Pathological Complete Response and Accelerated Drug Approval in Early Breast Cancer." *New England Journal of Medicine* 366 (26): 2438–41. doi:10.1056/NEJMp1205737.

Pusztai, Lajos, Chafika Mazouni, Keith Anderson, Yun Wu, and W. Fraser Symmans. 2006. "Molecular Classification of Breast Cancer: Limitations and Potential." *The Oncologist* 11 (8): 868–77. doi:10.1634/theoncologist.11-8-868.

Ragage, Florence, Marc Debled, Gaëtan MacGrogan, Véronique Brouste, Marie Desrousseaux, Isabelle Soubeyran, Christine Tunon de Lara, Louis Mauriac, and Isabelle de Mascarel. 2010. "Is It Useful to Detect Lymphovascular Invasion in Lymph Node-Positive Patients with Primary Operable Breast Cancer?" *Cancer* 116 (13): 3093–3101. doi:10.1002/cncr.25137.

Rakha, Emad A., Maysa E. El-Sayed, Andrew H. S. Lee, Christopher W. Elston, Matthew J. Grainge, Zsolt Hodi, Roger W. Blamey, and Ian O. Ellis. 2008. "Prognostic Significance of Nottingham Histologic Grade in Invasive Breast Carcinoma." *Journal of Clinical Oncology* 26 (19): 3153–58. doi:10.1200/JCO.2007.15.5986.

Rampurwala, Murtuza, Kari B. Wisinski, and Ruth O'Regan. 2016. "Role of the Androgen Receptor in Triple-Negative Breast Cancer." *Clinical Advances in Hematology & Oncology: H&O* 14 (3): 186–93.

Rathkopf, Dana E., Michael J. Morris, Josef J. Fox, Daniel C. Danila, Susan F. Slovin, Jeffrey H. Hager, Peter J. Rix, et al. 2013. "Phase I Study of ARN-509, a Novel Antiandrogen, in the Treatment of Castration-Resistant Prostate Cancer." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 31 (28): 3525–30. doi:10.1200/JCO.2013.50.1684.

Ravdin, P. M., S. Green, T. M. Dorr, W. L. McGuire, C. Fabian, R. P. Pugh, R. D. Carter, S. E. Rivkin, J. R. Borst, and R. J. Belt. 1992. "Prognostic Significance of Progesterone Receptor Levels in Estrogen Receptor-Positive Patients with Metastatic Breast Cancer Treated with Tamoxifen: Results of a Prospective Southwest Oncology Group Study." *Journal of Clinical Oncology* 10 (8): 1284–91.

Rechoum, Yassine, Daniela Rovito, Domenico Iacopetta, Ines Barone, Sebastiano Andò, Nancy L. Weigel, Bert W. O'Malley, Powel H. Brown, and Suzanne A. W. Fuqua. 2014. "AR Collaborates with ER $\alpha$  in Aromatase Inhibitor-Resistant Breast Cancer." *Breast Cancer Research and Treatment* 147 (3): 473–85. doi:10.1007/s10549-014-3082-8.

Regan, Meredith M., Patrick Neven, Anita Giobbie-Hurder, Aron Goldhirsch, Bent Ejlertsen, Louis Mauriac, John F. Forbes, et al. 2011. "Assessment of Letrozole and Tamoxifen Alone and in Sequence for Postmenopausal Women with Steroid Hormone Receptor-Positive Breast Cancer: The BIG 1-98 Randomised Clinical Trial at 8.1 Years Median Follow-Up." *The Lancet. Oncology* 12 (12): 1101–8. doi:10.1016/S1470-2045(11)70270-4.

Richer, Jennifer K., Britta M. Jacobsen, Nicole G. Manning, M. Greg Abel, Douglas M. Wolf, and Kathryn B. Horwitz. 2002. "Differential Gene Regulation by the Two Progesterone Receptor Isoforms in Human Breast Cancer Cells." *Journal of Biological Chemistry* 277 (7): 5209–18. doi:10.1074/jbc.M110090200.

Rizza, Pietro, Ines Barone, Domenico Zito, Francesca Giordano, Marilena Lanzino, Francesca De Amicis, Loredana Mauro, et al. 2014. "Estrogen Receptor Beta as a Novel Target of Androgen Receptor Action in Breast Cancer Cell Lines." *Breast Cancer Research: BCR* 16 (1): R21. doi:10.1186/bcr3619.

Robinson, Jessica L. L., Stewart Macarthur, Caryn S. Ross-Innes, Wayne D. Tilley, David E. Neal, Ian G. Mills, and Jason S. Carroll. 2011. "Androgen Receptor Driven Transcription in

Molecular Apocrine Breast Cancer Is Mediated by FoxA1." *The EMBO Journal* 30 (15): 3019–27. doi:10.1038/emboj.2011.216.

Romond, Edward H., Edith A. Perez, John Bryant, Vera J. Suman, Charles E. Geyer, Nancy E. Davidson, Elizabeth Tan-Chiu, et al. 2005. "Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer." *The New England Journal of Medicine* 353 (16): 1673–84. doi:10.1056/NEJMoa052122.

Ryan, Charles J., Matthew R. Smith, Johann S. de Bono, Arturo Molina, Christopher J. Logothetis, Paul de Souza, Karim Fizazi, et al. 2013. "Abiraterone in Metastatic Prostate Cancer without Previous Chemotherapy." *The New England Journal of Medicine* 368 (2): 138–48. doi:10.1056/NEJMoa1209096.

Saadatmand, Sepideh, Reini Bretveld, Sabine Siesling, and Madeleine M. A. Tilanus-Linthorst. 2015. "Influence of Tumour Stage at Breast Cancer Detection on Survival in Modern Times: Population Based Study in 173 797 Patients." *The BMJ* 351 (October): h4901. doi:10.1136/bmj.h4901.

Safarpour, Damoun, Shabnam Pakneshan, and Fattaneh A. Tavassoli. 2014. "Androgen Receptor (AR) Expression in 400 Breast Carcinomas: Is Routine AR Assessment Justified?" *American Journal of Cancer Research* 4 (4): 353–68.

Sanga, Sandeep, Bradley M. Broom, Vittorio Cristini, and Mary E. Edgerton. 2009. "Gene Expression Meta-Analysis Supports Existence of Molecular Apocrine Breast Cancer with a Role for Androgen Receptor and Implies Interactions with ErbB Family." *BMC Medical Genomics* 2: 59. doi:10.1186/1755-8794-2-59.

Scher, Howard I., Karim Fizazi, Fred Saad, Mary-Ellen Taplin, Cora N. Sternberg, Kurt Miller, Ronald de Wit, et al. 2012. "Increased Survival with Enzalutamide in Prostate Cancer after Chemotherapy." *New England Journal of Medicine* 367 (13): 1187–97. doi:10.1056/NEJMoa1207506.

Senkus, E., S. Kyriakides, S. Ohno, F. Penault-Llorca, P. Poortmans, E. Rutgers, S. Zackrisson, and F. Cardoso. 2015. "Primary Breast Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up." *Annals of Oncology* 26 (suppl 5): v8–30. doi:10.1093/annonc/mdv298.

Seshadri, R., C. Matthews, A. Dobrovic, and D. J. Horsfall. 1989. "The Significance of Oncogene Amplification in Primary Breast Cancer." *International Journal of Cancer. Journal International Du Cancer* 43 (2): 270–72.

Shah, Sohrab P., Andrew Roth, Rodrigo Goya, Arusha Oloumi, Gavin Ha, Yongjun Zhao, Gulisa Turashvili, et al. 2012. "The Clonal and Mutational Evolution Spectrum of Primary Triple-Negative Breast Cancers." *Nature* 486 (7403): 395–99. doi:10.1038/nature10933.

Siegel, Rebecca L., Kimberly D. Miller, and Ahmedin Jemal. 2015. "Cancer Statistics, 2015." *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 65 (1): 5–29. doi:10.3322/caac.21254.

Slamon, D. J., B. Leyland-Jones, S. Shak, H. Fuchs, V. Paton, A. Bajamonde, T. Fleming, et al. 2001. "Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2." *The New England Journal of Medicine* 344 (11): 783–92. doi:10.1056/NEJM200103153441101.

Song, Young Ju, Sun Hyoung Shin, Jin Seong Cho, Min Ho Park, Jung Han Yoon, and Young Jong Jegal. 2011. "The Role of Lymphovascular Invasion as a Prognostic Factor in Patients with Lymph Node-Positive Operable Invasive Breast Cancer." *Journal of Breast Cancer* 14 (3): 198–203. doi:10.4048/jbc.2011.14.3.198.

Sørli, T., C. M. Perou, R. Tibshirani, T. Aas, S. Geisler, H. Johnsen, T. Hastie, et al. 2001. "Gene Expression Patterns of Breast Carcinomas Distinguish Tumor Subclasses with Clinical Implications." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98 (19): 10869–74. doi:10.1073/pnas.191367098.

Sørli, Therese, Robert Tibshirani, Joel Parker, Trevor Hastie, J. S. Marron, Andrew Nobel, Shihong Deng, et al. 2003. "Repeated Observation of Breast Tumor Subtypes in Independent Gene Expression Data Sets." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100 (14): 8418–23. doi:10.1073/pnas.0932692100.

START Trialists' Group, S. M. Bentzen, R. K. Agrawal, E. G. A. Aird, J. M. Barrett, P. J. Barrett-Lee, S. M. Bentzen, et al. 2008. "The UK Standardisation of Breast Radiotherapy (START) Trial B of Radiotherapy Hypofractionation for Treatment of Early Breast Cancer: A Randomised Trial." *Lancet (London, England)* 371 (9618): 1098–1107. doi:10.1016/S0140-6736(08)60348-7.

Stephens, Philip J., Patrick S. Tarpey, Helen Davies, Peter Van Loo, Chris Greenman, David C. Wedge, Serena Nik-Zainal, et al. 2012. "The Landscape of Cancer Genes and Mutational Processes in Breast Cancer." *Nature* 486 (7403): 400–404. doi:10.1038/nature11017.

Stern, D. F., P. A. Heffernan, and R. A. Weinberg. 1986. "p185, a Product of the Neu Proto-Oncogene, Is a Receptorlike Protein Associated with Tyrosine Kinase Activity." *Molecular and Cellular Biology* 6 (5): 1729–40.

Tan, Qi-Xing, Qing-Hong Qin, Wei-Ping Yang, Qin-Guo Mo, and Chang-Yuan Wei. 2014. "Prognostic Value of Ki67 Expression in HR-Negative Breast Cancer before and after Neoadjuvant Chemotherapy." *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 7 (10): 6862–70.

Taplin, Mary-Ellen, Robert B. Montgomery, and ARMOR2 Group. 2014. "ARMOR2: Galeterone in Progressive CRPC Patients Who Have Failed Oral Therapy." *Journal of Clinical Oncology* 32 (suppl 4; abstr 71). <http://meetinglibrary.asco.org/content/122513-142>.

Tavassoli, Fattaneh A., Peter Devilee, International Agency for Research on Cancer, and World Health Organization, eds. 2003. *Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs*. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IAPS Press.

Terry, Stéphane, Xuezhen Yang, Min-Wei Chen, Francis Vacherot, and Ralph Buttyan. 2006. "Multifaceted Interaction between the Androgen and Wnt Signaling Pathways and the Implication for Prostate Cancer." *Journal of Cellular Biochemistry* 99 (2): 402–10. doi:10.1002/jcb.20983.

Teschendorff, Andrew E., Ahmad Mirejadi, Sarah E. Pinder, Ian O. Ellis, and Carlos Caldas. 2007. "An Immune Response Gene Expression Module Identifies a Good Prognosis Subtype in Estrogen Receptor Negative Breast Cancer." *Genome Biology* 8 (8): R157. doi:10.1186/gb-2007-8-8-r157.

Tolaney, Sara M., William T. Barry, Chau T. Dang, Denise A. Yardley, Beverly Moy, P. Kelly Marcom, Kathy S. Albain, et al. 2015. "Adjuvant Paclitaxel and Trastuzumab for Node-Negative, HER2-Positive Breast Cancer." *The New England Journal of Medicine* 372 (2): 134–41. doi:10.1056/NEJMoa1406281.

Toren, Paul J., Soojin Kim, Steven Pham, Azzra Mangalji, Hans Adomat, Emma S. Tomlinson Guns, Amina Zoubeydi, William Moore, and Martin E. Gleave. 2015. "Anticancer Activity of a Novel Selective CYP17A1 Inhibitor in Preclinical Models of Castrate-Resistant Prostate Cancer." *Molecular Cancer Therapeutics* 14 (1): 59–69. doi:10.1158/1535-7163.MCT-14-0521.

Traina, Tiffany A., Kathy Miller, Denise A. Yardley, Joyce O'Shaughnessy, Javier Cortes, Ahmad Awada, Catherine Margaret Kelly, et al. 2015. "Results from a Phase 2 Study of Enzalutamide (ENZA), an Androgen Receptor (AR) Inhibitor, in Advanced AR+ Triple-Negative Breast Cancer (TNBC)." *Journal of Clinical Oncology* 33 (suppl; abstr 1003).

<http://meetinglibrary.asco.org/content/150040-156>.

Tran, Chris, Samedy Ouk, Nicola J. Clegg, Yu Chen, Philip A. Watson, Vivek Arora, John Wongvipat, et al. 2009. "Development of a Second-Generation Antiandrogen for Treatment of Advanced Prostate Cancer." *Science (New York, N.Y.)* 324 (5928): 787–90.

doi:10.1126/science.1168175.

Trudeau, Maureen E., Eric P. Winer, Joyce Leta Steinberg, Maggie Liosatos, Srinivasu Poondru, Michael Nicholas Dydo, Amy C. Peterson, and William John Gradishar. 2015. "A Phase 2 Single-Arm Study to Assess Clinical Activity, Efficacy and Safety of Enzalutamide (ENZA) with Trastuzumab in HER2+ AR+ Metastatic or Locally Advanced Breast Cancer." *ASCO Meeting Abstracts* 33 (15\_suppl): TPS640.

Untch, Michael, Mahdi Rezai, Sibylle Loibl, Peter A. Fasching, Jens Huober, Hans Tesch, Ingo Bauerfeind, et al. 2010. "Neoadjuvant Treatment with Trastuzumab in HER2-Positive Breast Cancer: Results from the GeparQuattro Study." *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 28 (12): 2024–31.

doi:10.1200/JCO.2009.23.8451.

van Deurzen, Carolien H. M., Maaïke de Boer, Evelyn M. Monninkhof, Peter Bult, Elske van der Wall, Vivianne C. G. Tjan-Heijnen, and Paul J. van Diest. 2008. "Non-Sentinel Lymph Node Metastases Associated with Isolated Breast Cancer Cells in the Sentinel Node." *Journal of the National Cancer Institute* 100 (22): 1574–80. doi:10.1093/jnci/djn343.

Vera-Badillo, Francisco E., Arnoud J. Templeton, Paulo de Gouveia, Ivan Diaz-Padilla, Philippe L. Bedard, Mustafa Al-Mubarak, Bostjan Seruga, Ian F. Tannock, Alberto Ocana, and Eitan Amir. 2014. "Androgen Receptor Expression and Outcomes in Early Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Journal of the National Cancer Institute* 106 (1): djt319. doi:10.1093/jnci/djt319.

Viale, Giuseppe, Eugenio Maiorano, Giancarlo Pruneri, Mauro G. Mastropasqua, Stefano Valentini, Viviana Galimberti, Stefano Zurrada, Patrick Maisonneuve, Giovanni Paganelli, and Giovanni Mazzarol. 2005. "Predicting the Risk for Additional Axillary Metastases in Patients With Breast Carcinoma and Positive Sentinel Lymph Node Biopsy." *Annals of Surgery* 241 (2): 319–25. doi:10.1097/01.sla.0000150255.30665.52.

Vranic, Semir, Caterina Marchiò, Isabella Castellano, Cristina Botta, Maria Stella Scalzo, Ryan P. Bender, Cesar Payan-Gomez, et al. 2015. "Immunohistochemical and Molecular Profiling of Histologically Defined Apocrine Carcinomas of the Breast." *Human Pathology* 46 (9):

1350–59. doi:10.1016/j.humpath.2015.05.017.

Vranic, Semir, Ossama Tawfik, Juan Palazzo, Nurija Bilalovic, Eduardo Eyzaguirre, Lisa MJ Lee, Patrick Adegboyega, Jill Hagenkord, and Zoran Gatalica. 2010. "EGFR and HER-2/Neu Expression in Invasive Apocrine Carcinoma of the Breast." *Modern Pathology* 23 (5): 644–53. doi:10.1038/modpathol.2010.50.

Watson, Philip A., Yinan F. Chen, Minna D. Balbas, John Wongvipat, Nicholas D. Socci, Agnes Viale, Kwanghee Kim, and Charles L. Sawyers. 2010. "Constitutively Active Androgen Receptor Splice Variants Expressed in Castration-Resistant Prostate Cancer Require Full-Length Androgen Receptor." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (39): 16759–65. doi:10.1073/pnas.1012443107.

Weigelt, B., H. M. Horlings, B. Kreike, M. M. Hayes, M. Hauptmann, L. F. A. Wessels, D. de Jong, M. J. Van de Vijver, L. J. Van't Veer, and J. L. Peterse. 2008. "Refinement of Breast Cancer Classification by Molecular Characterization of Histological Special Types." *The Journal of Pathology* 216 (2): 141–50. doi:10.1002/path.2407.

Wellings, S. R., H. M. Jensen, and R. G. Marcum. 1975. "An Atlas of Subgross Pathology of the Human Breast with Special Reference to Possible Precancerous Lesions." *Journal of the National Cancer Institute* 55 (2): 231–73.

Whelan, Timothy J., Jean-Philippe Pignol, Mark N. Levine, Jim A. Julian, Robert MacKenzie, Sameer Parpia, Wendy Shelley, et al. 2010. "Long-Term Results of Hypofractionated Radiation Therapy for Breast Cancer." *The New England Journal of Medicine* 362 (6): 513–20. doi:10.1056/NEJMoa0906260.

Wolff, Antonio C., M. Elizabeth H. Hammond, David G. Hicks, Mitch Dowsett, Lisa M. McShane, Kimberly H. Allison, Donald C. Allred, et al. 2013. "Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update." *Journal of Clinical Oncology* 31 (31): 3997–4013. doi:10.1200/JCO.2013.50.9984.

Yamamoto, Shoji, Zhenhua Wu, Hege G. Russnes, Shinji Takagi, Guillermo Peluffo, Charles Vaske, Xi Zhao, et al. 2014. "JARID1B Is a Luminal Lineage-Driving Oncogene in Breast Cancer." *Cancer Cell* 25 (6): 762–77. doi:10.1016/j.ccr.2014.04.024.

Yardley, Denise A., Ahmad Awada, Javier Cortes, Howard A. Burris, Amy C. Peterson, Iulia Cristina Tudor, Shanna Stopatschinskaja, et al. 2014. "A Phase II Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Multicenter Trial Evaluating the Efficacy and Safety of Enzalutamide in

Combination with Exemestane in Estrogen or Progesterone Receptor-Positive and HER2-Normal Advanced Breast Cancer.” *Journal of Clinical Oncology* 32:5s (suppl; abstr TPS653). <http://meetinglibrary.asco.org/content/127237-144>.

Yi, M., L. Huo, K. B. Koenig, E. A. Mittendorf, F. Meric-Bernstam, H. M. Kuerer, I. Bedrosian, et al. 2014. “Which Threshold for ER Positivity? A Retrospective Study Based on 9639 Patients.” *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 25 (5): 1004–11. doi:10.1093/annonc/mdu053.

Yu, Ke-Da, Rui Zhu, Ming Zhan, Angel A. Rodriguez, Wei Yang, Stephen Wong, Andreas Makris, et al. 2013. “Identification of Prognosis-Relevant Subgroups in Patients with Chemoresistant Triple-Negative Breast Cancer.” *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research* 19 (10): 2723–33. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2986.

# Annexes

## ANNEXE 1 : Classification OMS 2012 des Carcinomes infiltrants

Carcinome infiltrant de type non spécifique

### Types spéciaux

- a. Carcinome lobulaire infiltrant
- b. Carcinome tubuleux et cribriforme
- c. Carcinome avec aspects médullaires
- d. Carcinome métaplasique
- e. Carcinome apocrine
- f. Carcinome de type glande salivaire ou glande annexielle de la peau
- g. Carcinome adénoïde kystique
- h. Carcinome mucoépidermoïde
- i. Carcinome polymorphe
- j. Carcinome mucineux et carcinome à cellules en bagues à chaton
- k. Carcinome avec différenciation neuroendocrine
- l. Carcinome papillaire infiltrant
- m. Carcinome micropapillaire infiltrant

### Formes exceptionnelles

- n. Carcinome sécrétant
- o. Carcinome oncocytique
- p. Carcinome sébacé
- q. Carcinome riche en lipides
- r. Carcinome à cellules claires riches en glycogène
- s. Carcinome à cellules acineuses

### Formes anatomo-cliniques

- t. Carcinome inflammatoire
- u. Carcinome bilatéral synchrone et non synchrone

## ANNEXE 2 : Classification TNM

Primary tumour (T)	
TX	Primary tumour cannot be assessed
T0	No evidence of primary tumour
Tis	Carcinoma <i>in situ</i>
Tis (DCIS)	Ductal carcinoma <i>in situ</i>
Tis (LCIS)	Lobular carcinoma <i>in situ</i>
Tis (Paget's)	Paget's disease (Paget disease) of the nipple NOT associated with invasive carcinoma and/or carcinoma <i>in situ</i> (DCIS and/or LCIS) in the underlying breast parenchyma. Carcinomas in the breast parenchyma associated with Paget's disease are categorised based on the size and characteristics of the parenchymal disease, although the presence of Paget's disease should still be noted.
T1	Tumour $\leq 20$ mm in greatest dimension
T1mi	Tumour $\leq 1$ mm in greatest dimension
T1a	Tumour $>1$ mm but $\leq 5$ mm in greatest dimension
T1b	Tumour $>5$ mm but $\leq 10$ mm in greatest dimension
T1c	Tumour $>10$ mm but $\leq 20$ mm in greatest dimension
T2	Tumour $>20$ mm but $\leq 50$ mm in greatest dimension
T3	Tumour $>50$ mm in greatest dimension
T4	Tumour of any size with direct extension to the chest wall and/or to the skin (ulceration or skin nodules) <sup>e</sup>
T4a	Extension to the chest wall, not including only pectoralis muscle adherence/invasion
T4b	Ulceration and/or ipsilateral satellite nodules and/or oedema (including peau d'orange) of the skin, which do not meet the criteria for inflammatory carcinoma
T4c	Both T4a and T4b
T4d	Inflammatory carcinoma <sup>f</sup>
Regional lymph nodes (N)	
Clinical (cN) <sup>g,h,i,j,k</sup>	
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed (e.g. previously removed)
N0	No regional lymph node metastases
N1	Metastases to movable ipsilateral level I, II axillary lymph node(s)
N2	Metastases in ipsilateral level I, II axillary lymph nodes that are clinically fixed or matted; or in clinically detected <sup>k</sup> ipsilateral internal mammary nodes in the absence of clinically evident axillary lymph node metastases
N2a	Metastases in ipsilateral level I, II axillary lymph nodes fixed to one another (matted) or to other structures
N2b	Metastases only in clinically detected <sup>k</sup> ipsilateral internal mammary nodes and in the absence of clinically evident level I, II axillary lymph node metastases
N3	Metastases in ipsilateral infraclavicular (level III axillary) lymph node(s) with or without level I, II axillary lymph node involvement; or in clinically detected <sup>k</sup> ipsilateral internal mammary lymph node(s) with clinically evident level I, II axillary lymph node metastases; or metastases in ipsilateral supraclavicular lymph node(s) with or without axillary or internal mammary lymph node involvement
N3a	Metastases in ipsilateral infraclavicular lymph node(s)
N3b	Metastases in ipsilateral internal mammary lymph node(s) and axillary lymph node(s)
N3c	Metastases in ipsilateral supraclavicular lymph node(s)
Regional lymph nodes (N)	
Pathological (pN) <sup>h,i,j,k</sup>	
pNX	Regional lymph nodes cannot be assessed (e.g. previously removed or not removed for pathological study)
pN0	No regional lymph node metastasis identified histologically
pN0(i-)	No regional lymph node metastases histologically, negative immunohistochemistry (IHC)
pN0(i+)	Malignant cells in regional lymph node(s) not $>0.2$ mm [detected by haematoxylin and eosin (H&E) staining or IHC including isolated tumour cell clusters (ITCs)]
pN0(mol-)	No regional lymph node metastases histologically, negative molecular findings (RT-PCR)
pN0(mol+)	Positive molecular findings (RT-PCR), but no regional lymph node metastases detected by histology or IHC
pN1	Micrometastases; or metastases in one to three axillary lymph nodes; and/or in internal mammary nodes with metastases detected by SLNB but not clinically detected <sup>l</sup>
pN1mi	Micrometastases ( $>0.2$ mm and/or $>200$ cells, but none $>2.0$ mm)
pN1a	Metastases in one to three axillary lymph nodes, at least one metastasis $>2.0$ mm
pN1b	Metastases in internal mammary nodes with micrometastases or macrometastases detected by SLNB but not clinically detected <sup>l</sup>
pN1c	Metastases in one to three axillary lymph nodes and in internal mammary lymph nodes with micrometastases or macrometastases detected by SLNB but not clinically detected <sup>l</sup>
pN2	Metastases in four to nine axillary lymph nodes; or in clinically detected <sup>k</sup> internal mammary lymph nodes in the absence of axillary lymph node metastases
pN2a	Metastases in four to nine axillary lymph nodes (at least one tumour deposit $>2.0$ mm)
pN2b	Metastases in clinically detected <sup>k</sup> internal mammary lymph nodes in the absence of axillary lymph node metastases
pN3	Metastases in $\geq 10$ axillary lymph nodes; or in infraclavicular (level III axillary) lymph nodes; or in clinically detected <sup>k</sup> ipsilateral internal mammary lymph nodes in the presence of one or more positive level I, II axillary lymph nodes; or in more than three axillary lymph nodes and in internal mammary lymph nodes with micrometastases or macrometastases detected by SLNB but not clinically detected <sup>l</sup> ; or in ipsilateral supraclavicular lymph nodes
pN3a	Metastases in $\geq 10$ axillary lymph nodes (at least one tumour deposit $>2.0$ mm); or metastases to the infraclavicular (level III axilla lymph) nodes
pN3b	Metastases in clinically detected <sup>k</sup> ipsilateral internal mammary lymph nodes in the presence of one or more positive axillary lymph nodes; or in more than three axillary lymph nodes and in internal mammary lymph nodes with micrometastases or macrometastases detected by SLNB but not clinically detected <sup>l</sup>
pN3c	Metastases in ipsilateral supraclavicular lymph nodes
Distant metastasis (M)	
M0	No clinical or radiographic evidence of distant metastases
cM0(i+)	No clinical or radiographic evidence of distant metastases, but deposits of molecularly or microscopically detected tumour cells in circulating blood, bone marrow or other non-regional nodal tissue that are not $>0.2$ mm in a patient without symptoms or signs metastases
M1	Distant detectable metastases as determined by classic clinical and radiographic means and/or histologically proven $>0.2$ mm

**Table 4. Stage grouping system for carcinoma of the breast**

Anatomic stage/prognostic groups <sup>a</sup>		
Stage 0		
Tis	N0	M0
Stage IA		
T1 <sup>b</sup>	N0	M0
Stage IB		
T0	N1mi	M0
T1 <sup>b</sup>	N1mi	M0
Stage IIA		
T0	N1 <sup>c</sup>	M0
T1 <sup>b</sup>	N1 <sup>c</sup>	M0
T2	N0	M0
Stage IIB		
T2	N1	M0
T3	N0	M0
Stage IIIA		
T0	N2	M0
T1 <sup>b</sup>	N2	M0
T2	N2	M0
T3	N1	M0
T3	N2	M0
Stage IIIB		
T4	N0	M0
T4	N1	M0
T4	N2	M0
Stage IIIC		
Any T	N3	M0
Stage IV		
Any T	Any N	M

<sup>a</sup>Anatomic stage: M0 includes M0(i+). The designation pM0 is not valid any M0 should be clinical. If a patient presents with M1 before neoadjuvant systemic therapy, the stage is considered stage IV and remains stage IV regardless of response to neoadjuvant therapy. Stage designation may be changed if postsurgical imaging studies reveal the presence of distant metastases, provided that the studies are carried out within 4 months of diagnosis in the absence of disease progression and provided that the patient has not received neoadjuvant therapy. Post neoadjuvant assessment is designated with a 'yc' or 'yp' prefix. Of note no stage group is assigned if there is a complete pathological response (pCR) to neoadjuvant therapy, e.g. ypT0ypN0cM0.

<sup>b</sup>T1 includes T1mi.

<sup>c</sup>T0 and T1 tumours with nodal micrometastases only are excluded from stage IIA and are classified stage IB.

From [24]. Used with the permission of the American Joint Committee on Cancer (AJCC), Chicago, Illinois. The original source for this material is the AJCC Cancer Staging Handbook, 7th Edition (2010) published by Springer Science and Business Media LLC, [www.springer.com](http://www.springer.com).

ANNEXE 3 : caractéristiques et traitements reçus par sous-types

	Caractéristiques et traitements par sous-types								Total (N=1092)
	Lum (N=257)	Lum A HER2- (N=366)	Lum B HER2+ (N=126)	HER2+ B non-lum non-MA (N=11)	MA (N=108)	Quadrup négatives (N=120)	Non-classé (N=104)		
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<b>Age</b>									
<= 40	34 (13.2)	76 (20.8)	28 (22.2)	0 (0.0)	16 (14.8)	35 (29.2)	24 (23.1)	213 (19.5)	
40<-=50	114 (44.4)	160 (43.7)	48 (38.1)	4 (36.4)	25 (23.1)	31 (25.8)	41 (39.4)	423 (38.7)	
50<-=70	109 (42.4)	130 (35.5)	50 (39.7)	7 (63.6)	67 (62.0)	54 (45.0)	39 (37.5)	456 (41.8)	
médian	49.6	47.9	48.4	53.8	53.9	49.9	47.8	49.0	
<b>Statut ménopausique</b>									
Préménopausée	147 (57.2)	239 (65.3)	74 (58.7)	5 (45.5)	42 (38.9)	67 (55.8)	62 (59.6)	636 (58.2)	
Ménopausée	108 (42.0)	125 (34.2)	51 (40.5)	6 (54.5)	66 (61.1)	53 (44.2)	42 (40.4)	451 (41.3)	
Manquant	2 (0.8)	2 (0.5)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (0.5)	
<b>Taille tumorale</b>									
T1	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.9)	0 (0.0)	1 (1.0)	3 (0.3)	
T2	151 (58.8)	195 (53.3)	58 (46.0)	6 (54.5)	55 (50.9)	65 (54.2)	52 (50.0)	582 (53.3)	
T3	76 (29.6)	109 (29.8)	39 (31.0)	2 (18.2)	26 (24.1)	37 (30.8)	38 (36.5)	327 (29.9)	
T4	30 (11.7)	61 (16.7)	28 (22.2)	3 (27.3)	26 (24.1)	18 (15.0)	13 (12.5)	179 (16.4)	
Tx	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.1)	
<b>Envahissement ganglionnaire</b>									
N0	154 (59.9)	160 (43.7)	55 (43.7)	3 (27.3)	41 (38.0)	45 (37.5)	46 (44.2)	504 (46.2)	
N1	101 (39.3)	191 (52.2)	66 (52.4)	8 (72.7)	58 (53.7)	59 (49.2)	53 (51.0)	536 (49.1)	
N2	2 (0.8)	14 (3.8)	5 (4.0)	0 (0.0)	7 (6.5)	14 (11.7)	4 (3.8)	46 (4.2)	
N3	0 (0.0)	1 (0.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.9)	2 (1.7)	1 (1.0)	6 (0.5)	
<b>Type histologique</b>									
Canalaire	190 (73.9)	316 (86.3)	111 (88.1)	10 (90.9)	99 (91.7)	109 (90.8)	73 (70.2)	908 (83.2)	
Lobulaire	58 (22.6)	34 (9.3)	4 (3.2)	0 (0.0)	4 (3.7)	3 (2.5)	22 (21.2)	125 (11.4)	
Autre	9 (3.5)	14 (3.8)	10 (7.9)	1 (9.1)	5 (4.6)	7 (5.8)	9 (8.7)	55 (5.0)	
Manquant	0 (0.0)	2 (0.5)	1 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	4 (0.4)	
<b>Grade</b>									
Grade 1	43 (16.7)	20 (5.5)	5 (4.0)	1 (9.1)	2 (1.9)	0 (0.0)	9 (8.7)	80 (7.3)	

<b>Grade 2</b>	175 (68.1)	197 (53.8)	47 (37.3)	3 (27.3)	40 (37.0)	26 (21.7)	46 (44.2)	534 (48.9)
<b>Grade 3</b>	18 (7.0)	113 (30.9)	56 (44.4)	7 (63.6)	51 (47.2)	88 (73.3)	35 (33.7)	368 (33.7)
<b>Manquant</b>	21 (8.2)	36 (9.8)	18 (14.3)	0 (0.0)	15 (13.9)	6 (5.0)	14 (13.5)	110 (10.1)
<b>KI67</b>								
<b>Faible</b>	257 (100.0)	0 (0.0)	23 (18.3)	2 (18.2)	20 (18.5)	6 (5.0)	11 (10.6)	319 (29.2)
<b>Elevé</b>	0 (0.0)	366 (100.0)	102 (81.0)	9 (81.8)	87 (80.6)	113 (94.2)	23 (22.1)	700 (64.1)
<b>Manquant</b>	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.8)	0 (0.0)	1 (0.9)	1 (0.8)	70 (67.3)	73 (6.7)
<b>Statut P53</b>								
<b>Manquant</b>	34 (13.2)	49 (13.4)	19 (15.1)	2 (18.2)	26 (24.1)	19 (15.8)	16 (15.4)	165 (15.1)
<b>Sauvage</b>	178 (69.3)	201 (54.9)	55 (43.7)	3 (27.3)	23 (21.3)	24 (20.0)	51 (49.0)	535 (49.0)
<b>Muté</b>	45 (17.5)	116 (31.7)	52 (41.3)	6 (54.5)	59 (54.6)	77 (64.2)	37 (35.6)	392 (35.9)
<b>Type de chirurgie</b>								
<b>Tumorectomie/ quadrantectomie</b>	126 (49.0)	157 (42.9)	56 (44.4)	7 (63.6)	44 (40.7)	67 (55.8)	36 (34.6)	493 (45.1)
<b>Mastectomie</b>	129 (50.2)	204 (55.7)	67 (53.2)	4 (36.4)	61 (56.5)	44 (36.7)	67 (64.4)	576 (52.7)
<b>Manquant</b>	2 (0.8)	5 (1.4)	3 (2.4)	0 (0.0)	3 (2.8)	9 (7.5)	1 (1.0)	23 (2.1)
<b>Bras de traitement</b>								
<b>FEC</b>	127 (49.4)	191 (52.2)	68 (54.0)	5 (45.5)	51 (47.2)	54 (45.0)	53 (51.0)	549 (50.3)
<b>T-ET</b>	130 (50.6)	175 (47.8)	58 (46.0)	6 (54.5)	57 (52.8)	66 (55.0)	51 (49.0)	543 (49.7)
<b>Hormonothérapie adjuvante</b>								
<b>Non</b>	12 (4.7)	33 (9.0)	27 (21.4)	8 (72.7)	91 (84.3)	95 (79.2)	32 (30.8)	298 (27.3)
<b>Oui</b>	244 (94.9)	331 (90.4)	98 (77.8)	3 (27.3)	13 (12.0)	17 (14.2)	70 (67.3)	776 (71.1)
<b>Manquant</b>	1 (0.4)	2 (0.5)	1 (0.8)	0 (0.0)	4 (3.7)	8 (6.7)	2 (1.9)	18 (1.6)
<b>Trastuzumab adjuvant</b>								
<b>Non</b>	152 (59.1)	218 (59.6)	76 (60.3)	8 (72.7)	68 (63.0)	65 (54.2)	58 (55.8)	645 (59.1)
<b>Oui</b>	1 (0.4)	5 (1.4)	42 (33.3)	3 (27.3)	20 (18.5)	0 (0.0)	8 (7.7)	79 (7.2)
<b>Manquant</b>	104 (40.5)	143 (39.1)	8 (6.3)	0 (0.0)	20 (18.5)	55 (45.8)	38 (36.5)	368 (33.7)

## Résumé

**Rationnel** : Les cancers du sein comportent plusieurs sous-types, dont le sous-type moléculaire apocrine (MA). Ces tumeurs sont caractérisées par l'expression du récepteur aux androgènes (AR), l'absence d'expression du récepteur aux estrogènes (ER) et l'expression de nombreux gènes luminaux. Dans la littérature, ce sous-type représente 10% des cancers du sein, soit 5000 nouveaux cas par an en France. Après une revue de la littérature, nous présenterons les résultats de notre travail original, qui décrit la fréquence, le taux de réponse histologique (RCH) et les paramètres de survie des tumeurs MA, identifiées dans l'étude EORTC 10994.

**Matériel et Méthodes** : Dans l'étude EORTC, 1856 patientes ont reçu une chimiothérapie néo-adjuvante. Les biopsies des patientes ont été classées dans un "tissu microarray" (TMA) puis analysées par immunohistochimie pour: ER, PgR, Ki67, AR et HER2. Nous avons classé les tumeurs en 6 sous-groupes. Le sous-type MA est subdivisé en 2 sous-groupes selon le statut de HER2.

**Résultats** : 1123 tumeurs ont été incluses dans le TMA et 1092 tumeurs éligibles ont été analysées. Nous avons identifié 108 tumeurs MA (9,9%) dont 2/3 sont HER+ et 1/3 HER2-. Le taux de RCH est de 34,6%. Les taux de survie sans récurrence (SSR), survie sans métastases à distance, et survie globale (SG) à 5ans sont de 55,5%, 63,9% et 69,6%. Les résultats pour les autres sous-types sont :

	Lum A (N= 257)	Lum B Her2- (366)	Lum B Her2+(126)	Quad. Neg. (120)
%RCH	7.5	12.8	27.6	33.0
%SSR	80.9	68.6	57.5	57.0
%SG	92.5	85.0	84.5	64.8

**Conclusion** : Les tumeurs MA représentent ≈10% des cancers de notre étude; 1/3 sont HER2-. Malgré un taux de RCH élevé, 45% des tumeurs MA rechutent dans les 5 ans. Ce taux de rechute souligne la nécessité de développer d'autres options thérapeutiques, notamment les traitements anti-androgéniques.

# Abstract

**Background :** Breast cancers encompass several subtypes, including molecular apocrine (MA) tumors. These tumors are characterized by expression of androgen receptor (AR), absence of the estrogen receptor (ER), and expression of luminal genes. In the literature, 10% of breast cancers are MA tumors, giving a total of 5000 cases per year in France. After a literature review, we will present an original study that describe frequency, pathological response rate and outcomes of molecular apocrine tumors identified in EORTC 10994 study.

**Methods:** 1856 patients, included in EORTC study, have received neo-adjuvant chemotherapy. Biopsies from patients included in our ancillary study were included in a Tissue MicroArray to assess markers by immunohistochemistry: ER, PgR, Ki67, AR and Her2. We classified tumors in 6 subtypes. MA tumors were subdivided into 2 subgroups, according to their Her2 status.

**Results:** 1123 tumors were included in the TMA, from which 1092 were assessable. We identified a molecular apocrine phenotype in 108 tumors (9.9%). One third were Her2-, and two thirds were Her2+. The pathological response rate was 34.6%. The 5-years rates for recurrence-free survival (RFS), distant recurrence-free survival and overall survival (OS) were 55.5%, 63.9% and 69.6%. Outcomes of remaining subtypes are described in the table:

	Lum A (N= 257)	Lum B Her2- (366)	Lum B Her2+(126)	Quad. Neg. (120)
%pCR	7.5	12.8	27.6	33.0
%RFS	80.9	68.6	57.5	57.0
%OS	92.5	85.0	84.5	64.8

**Conclusion:** Approximately 10% of our study's tumors are molecular apocrine tumors, and one third are Her2-. Notwithstanding their high pCR rate, 45% of molecular apocrine tumors relapse within 5 years. These results support the need of new therapeutics, in particular anti-androgens treatments.

## Serment médical

Version du Serment d'Hippocrate réactualisée et publiée dans le bulletin de l'Ordre National des Médecins (Avril 1996, n° 4) :

*“Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.*

*Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.*

*Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.*

*J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.*

*Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.*

*Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.*

*Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.*

*Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.*

*J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.*

*Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.”*



