



HAL
open science

Détection des mutations circulantes PIK3CA au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Violette Allouchery

► **To cite this version:**

Violette Allouchery. Détection des mutations circulantes PIK3CA au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03011601

HAL Id: dumas-03011601

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03011601v1>

Submitted on 18 Nov 2020

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.

UFR DE SANTE DE ROUEN NORMANDIE

ANNEE 2020

N°

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'état)

Discipline : ONCOLOGIE MEDICALE

Par **Violette ALLOUCHERY**

Née le 29/08/1991 à Lillebonne (Seine-Maritime)

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 14/10/2020

**Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic
chez les patientes suivies pour un cancer du sein
inflammatoire non métastatique.**

Président de jury : Professeur Frédéric **DI FIORE**, PUPH Oncologie médicale

Directeur de thèse : Docteur Florian **CLATOT**, PH Oncologie médicale

Membres du jury : Professeur Bernard **DUBRAY**, PUPH Onco-Radiothérapie

Professeur Thierry **FREBOURG**, PUPH Génétique

Docteur Anca **BERGHIAN**, PH Anatomopathologie

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019 - 2020

U.F.R. SANTÉ DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Agnès LIARD
Professeur Guillaume SAVOYE

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle APTER	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc BASTE	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mme Sophie CANDON	HCN	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	CHB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CHB	Radiothérapie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique – Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER (<i>surnombre</i>)	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Fabrice JARDIN	CHB	Hématologie

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HCN	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HCN	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Benoit MISSET (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN (<i>disponibilité</i>)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian SCHWARZ	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Hervé TILLY (<i>surnombre</i>)	CHB	Hématologie et transfusion
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HC	Rhumatologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Najate ACHAMRAH	HCN	Nutrition
Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Emmanuel BESNIER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
M. Florent MARGUET	HCN	Histologie
Mme Chloé MELCHIOR	HCN	Gastroentérologie
Mr Thomas MOUREZ (<i>détachement</i>)	HCN	Virologie
Mr Gaël NICOLAS	UFR	Génétique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mr Julien WILS	HCN	Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
Mme Mélanie AUVRAY-HAMEL	UFR	Anglais

II - PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy BELLIEN (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEUIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Thomas CASTANHEIRO MATIAS	Chimie Organique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (LE CLEZIO)	Statistiques
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Toxicologie
M. Jérémie MARTINET (MCU-PH)	Immunologie
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mme Caroline BERTOUX	Pharmacie

PAU-PH

M. Mikaël **DAOUPHARS**

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES

Mme Alice MOISAN	Virologie
M. Henri GONDÉ	Pharmacie

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

M. Abdel **MOUHAJIR** Parasitologie

M. Maxime **GRAND** Bactériologie

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT

Mme Ramla **SALHI** Pharmacognosie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Jean-Loup **HERMIL** (PU-MG) UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCE MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (MCU-MG) UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mme Lucile **PELLERIN** UFR Médecine générale

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med) 905)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain FRAINEAU (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var TAN	Immunologie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique **DELAFONTAINE**

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ - Saint Julien Rouen

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

REMERCIEMENTS

Au Président du jury,

Monsieur le Professeur Di Fiore,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury et de juger mon travail. Merci également pour votre soutien et accompagnement lors des différents projets de recherche qui ont jalonné mon parcours d'interne, ainsi que pour votre implication à la concrétisation de mon futur projet professionnel.

Enfin, de manière moins conventionnelle, merci d'avoir sublimé Michel Berger par des paroles très à propos qui ont bercé ma fin d'internat.

A mon directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Florian Clatot,

Pour m'avoir fait confiance tôt dans mon cursus, lors de mes balbutiements d'interne d'oncologie, initiant un compagnonnage précieux et bienveillant qui m'a toujours poussé vers une constante amélioration. Sans oublier de remercier ton humour caustique à base de blagues volontairement misogynes qui m'ont permis d'exercer ma répartie à bon escient.

Merci également pour ta disponibilité permanente et ta patience infinie, que j'ai parfois mise à l'épreuve avec brio lorsqu'il s'agissait d'aborder statistiques ou techniques de laboratoire.

Tu as eu sans nul doute un véritable impact positif sur mon parcours professionnel et en ce sens, sois assuré de ma profonde gratitude.

Aux membres de mon jury,

Monsieur le Professeur Thierry Frebourg,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger dans ce jury et pour l'intérêt que vous aurez porté à mon travail.

Recevez également mes plus vifs remerciements pour votre accueil si chaleureux lors de mon semestre en génétique, pour votre pédagogie, ainsi que pour votre dévouement aussi bien scientifique que relationnel auprès de vos patients. Vous avez vivement participé à mon engouement pour l'oncogénétique et je vous en suis très reconnaissante.

TABLE DES MATIERES

I. Introduction	26
1. Epidémiologie et généralités sur le cancer du sein	26
1.1 Epidémiologie du cancer du sein.....	26
1.2 Facteurs de risque et facteurs pronostiques histocliniques.....	26
1.3 Transcriptomique et Biologie moléculaire	30
1.3.1 Sous-type Luminal A.....	31
1.3.2 Sous-type Luminal B.....	31
1.3.3 Sous-type Basal-like	32
1.3.4 Sous-type HER2 enrichi	33
1.3.5 Classification génomique : caractéristiques et limites.....	33
1.4 Biologie moléculaire et application clinique	35
2. ADN tumoral circulant : Concept biologique et méthodes de détection.....	37
3. Mutations <i>PIK3CA</i>	39
3.1 Généralités	40
3.2 Méthodes de détection	43
3.2.1 Somatique	43
3.2.2 Circulant	43
3.3 Valeur pronostique des mutations <i>PIK3CA</i> dans le cancer du sein.....	44
3.4 Valeur prédictive et approche théranostique des mutations <i>PIK3CA</i> dans les cancers du sein	44
4. Cancer du sein inflammatoire	47
4.1. Epidémiologie, définition, caractéristiques et prise en charge thérapeutique	47
4.2. Biologie moléculaire.....	48
II. Objectif	50
III. Matériel et méthode	51
1. Sélection des patientes	51
2. Critères de jugement.....	51
3. Procédure analytique	52
3.1. Extraction d'ADN sur tissu tumoral.....	52
3.2. Extraction d'ADN total circulant sur échantillon plasmatique.....	52
3.3. Détection par digital droplet PCR.....	53
3.4. Analyse	53
3.5. Statistiques	55

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

IV. Résultats	56
1. Caractéristiques des patientes	56
2. Statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur biopsie tumorale au diagnostic	56
3. Statut mutationnel circulant <i>PIK3CA</i> au diagnostic.....	59
4. Statut mutationnel <i>PIK3CA</i> après traitement néoadjuvant chez les patientes mutées sur biopsie initiale.....	60
5. Réponse au traitement néoadjuvant selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> et le taux d'ADNlc	61
6. Analyse de la survie globale	62
6.1. Survie globale selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral au diagnostic.....	63
6.2. Survie globale selon le statut mutationnel circulant <i>PIK3CA</i>	64
6.3. Survie globale selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral et en circulant au diagnostic	65
6.4. Survie globale selon le taux d'ADNlc.....	66
6.5. Survie globale selon la réponse histologique complète.....	67
7. Analyse de la survie sans progression	68
7.1. Survie sans progression selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral.....	69
7.2. Survie sans progression selon le statut mutationnel circulant <i>PIK3CA</i>	70
7.3. Survie sans progression globale selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral et en circulant au diagnostic	71
7.4. Survie sans progression selon le taux d'ADNlc initial.....	72
7.5. Survie sans progression selon la réponse histologique complète	73
V. Discussion	74
VI. Perspectives et Conclusion	78
VII. Annexe	79
VIII. Bibliographie	80

TABLE DES FIGURES

Figure 1	Survie selon la réponse histologique complète chez les patientes ayant reçu une chimiothérapie néoadjuvante	29
Figure 2	Place de PI3K dans la voie de signalisation PI3K/AKT.....	40
Figure 3	Schéma de la protéine PI3K avec ses deux sous-unités	41
Figure 4	Structure du gène <i>PIK3CA</i>	41
Figure 5	Répartition des différentes mutations de <i>PIK3CA</i> dans les cancers du sein	42
Figure 6	Plasma testé avec et sans héparinase par digital droplet PCR.	54
Figure 7	Mise au point de la détection mutationnelle <i>PIK3CA</i> H1047R sur la Stilla.....	54
Figure 8	Flow chart de l'étude	57
Figure 9	Distribution des mutations <i>PIK3CA</i> sur biopsie initiale et sur matériel circulant au diagnostic.	59
Figure 10	Survie globale	62
Figure 11	Survie globale selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral au diagnostic.....	63
Figure 12	Survie globale selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> circulant au diagnostic	64
Figure 13	Survie globale selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral et en circulant au diagnostic	65
Figure 14	Survie globale selon le taux d'ADNlc au diagnostic.....	66
Figure 15	Survie globale selon la réponse histologique complète	67
Figure 16	Survie sans progression	68
Figure 17	Survie sans progression selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral au diagnostic.	69
Figure 18	Survie sans progression selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> circulant	70
Figure 19	Survie sans progression selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> sur tissu tumoral et en circulant.....	71
Figure 20	Survie sans progression selon le taux d'ADNlc.....	72
Figure 21	Survie sans progression selon la réponse histologique complète.....	73

SOMMAIRE DES TABLEAUX

Tableau 1	Facteurs de risque de cancer du sein	28
Tableau 2	Caractéristiques génomiques des différents sous-types de cancer du sein.....	34
Tableau 3	Définition des sous-types moléculaires en routine clinique.....	35
Tableau 4	Caractéristiques des patientes incluses.	58
Tableau 5	Mutations <i>PIK3CA</i> , réponse à la chimiothérapie néoadjuvante et survie sans progression des patientes mutées.	60
Tableau 6	Réponse au traitement néo-adjuvant selon le statut mutationnel <i>PIK3CA</i> et le taux d'ADNc.....	61

Abréviations

AA : Anti-Aromatase

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

ADNlc : ADN libre circulant

ADNtc : ADN tumoral circulant

ATU : Autorisation temporaire d'utilisation

CHB : Centre Henri Becquerel

CSI : Cancer du sein inflammatoire

CSNI : Cancer du sein non inflammatoire

CSILA : Cancer du sein inflammatoire localement avancé

dPCR : digital Polymerase Chain Reaction

ddPCR : droplet digital Polymerase Chain Reaction

ESR1 : Estrogen Receptor 1

FVA : Fraction Variant Allélique

FFPE : Fixation à la Paraffine et au Formol

FISH : Hybridation in situ par fluorescence

HER2 : Human Epidermal growth factor Receptor 2

HR : Hazard Ratio

IC : Intervalle de Confiance

IRON : équipe de Recherche en ONcologie

NGS : Next Generation Sequencing

pCR : Réponse histologique complète

PI3K : Phosphatidylinositol-3-kinase

PIK3CA : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha

RH : Récepteurs Hormonaux

RH+ : exprimant les récepteurs hormonaux

RO : Récepteur Œstrogènes

SBR : Scarff-Bloom-Richardson

SG : Survie Globale

SSP : Survie Sans Progression

I. Introduction

1. Epidémiologie et généralités sur le cancer du sein

1.1 Epidémiologie du cancer du sein

Le cancer du sein se situe au premier rang des cancers incidents chez la femme, loin devant le cancer du côlon-rectum et le cancer du poumon. Ainsi, en France Métropolitaine, il a été diagnostiqué 58 968 nouveaux cas en 2017 (1). L'incidence du cancer du sein a beaucoup augmenté ces dernières décennies, mais une rupture de tendance est observée depuis 2005. Bien que l'on observe une diminution du taux de mortalité d'années en années, expliquée en partie par l'amélioration des traitements, ainsi que par le dépistage organisé du cancer du sein de plus en plus adapté au niveau de risque de chaque femme, il reste celui qui cause le plus grand nombre de décès chez la femme, avec 18,2% des décès féminins par cancer. En effet, 11883 décès ont été estimés en 2017 (1), avec un âge médian de 73 ans, faisant du cancer du sein un véritable enjeu de santé publique.

1.2 Facteurs de risque et facteurs pronostiques histocliniques

Les principaux facteurs de risque connus de ce cancer sont l'âge, la prédisposition génétique, un antécédent personnel de pathologie mammaire, un antécédent personnel d'irradiation thoracique médicale à fortes doses, ainsi que les expositions hormonales endogènes et exogènes. D'autres facteurs de risque moins célèbres sont résumés sur le tableau 1, tels qu'un indice de masse corporelle (IMC ou BMI pour body mass index) élevé ou encore une exogénose chronique (2).

Au diagnostic, on distingue deux entités que sont les cancers du sein localisés et les cancers du sein métastatiques, qui bénéficient de prises en charge distinctes. Le cancer du sein d'emblée métastatique représente 10% des cancers du sein au diagnostic, mais 20 à 30% des cancers initialement localisés deviendront secondairement métastatiques.

Différents facteurs de risque de rechute métastatique et a fortiori, de décès, ont été identifiés, tant sur le plan clinique qu'histologique. Ainsi, l'âge de la patiente, la taille

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

tumorale, l'atteinte ganglionnaire et le caractère inflammatoire de la tumeur représentent les principaux facteurs pronostiques cliniques du cancer du sein. Sur le plan histologique, les principaux facteurs pronostiques sont le grade de Scarff Bloom et Richardson (SBR) (3), la qualité des marges d'exérèse (4), la présence ou non d'embolies vasculaires (5), et le Ki67 (6). L'expression des récepteurs hormonaux à l'œstrogène et à la progestérone représente également un facteur avéré de bon pronostic (7,8). Environ 70% des cancers du sein expriment des récepteurs hormonaux à la surface des cellules tumorales. En France, le seuil de positivité est fixé à 10% de cellules tumorales marquées par les récepteurs à l'œstrogène en immunohistochimie pour considérer une tumeur du sein comme exprimant les récepteurs hormonaux (RH+), contre 1% aux Etats-Unis. Au-delà de sa valeur pronostique, l'expression hormonale représente un facteur prédictif de réponse aux hormonothérapies (9,10). En effet, pour ces tumeurs, les œstrogènes sont un stimulateur majeur de leur développement, et les traitements réduisant l'effet œstrogénique représentent un axe thérapeutique incontournable, aussi bien lors de la phase adjuvante d'un traitement local, mais également lors de la phase métastatique dès la 1ère ligne. Deux classes médicamenteuses sont disponibles : les inhibiteurs des récepteurs aux œstrogènes dont le tamoxifène représente le chef de file, et les anti-aromatases (AA).

Par ailleurs, l'amplification du gène Human Epidermal growth factor Receptor 2 (HER2), présente dans environ 20% des cancers du sein, est considérée comme un facteur de mauvais pronostic, mais prédit une bonne réponse aux thérapeutiques dédiées de type anticorps monoclonaux anti-HER2, permettant depuis leur utilisation, une nette amélioration du pronostic de ce sous-type moléculaire de cancer du sein.

Enfin, les cancers du sein dits « triple-négatifs », n'exprimant donc ni les récepteurs hormonaux et ne présentant pas de surexpression d'HER2, sont considérées comme des tumeurs de mauvais pronostic, avec 34% de rechutes métastatiques à 5 ans, et un pic de rechute essentiellement dans les 3 ans de la prise en charge (11). Ces tumeurs représentent environ 15% des cancers du sein et sont notamment marquées par un pronostic effroyable en cas de présentation métastatique, avec une médiane de survie globale ne dépassant pas 15 mois (12).

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

	Relative risk	High-risk group
Age	>10	Elderly individuals
Geographical location	5	Developed countries
Breast density	>5	Extensive dense breast tissue visible on mammogram
Age at menarche	3	Before age 11 years
Age at menopause	2	After age 54 years
Age at first full pregnancy	3	First child after age 40 years
Family history	≥2	Breast cancer in first-degree relative
Previous benign breast disease	4-5	Atypical hyperplasia
Cancer in other breast	>4	Previous breast cancer
Socioeconomic group	2	Groups I and II*
Body-mass index		
Premenopause	0-7	High body-mass index
Postmenopause	2	High body-mass index
Alcohol consumption	1.07	7% increase with every daily drink
Exposure to ionising radiation	3	Abnormal exposure to young girls after age 10 years
Breastfeeding and parity	Relative risk falls by 4-3% for every 12 months of breastfeeding in addition to a 7% reduction for every birth	Women who do not breastfeed
Use of exogenous hormones		
Oral contraceptives	1-2	Current users
Hormone-replacement therapy	1.66	Current users
Diethylstilbestrol	2	Use during pregnancy

Source: references 7-11. *I and II represent high and low socioeconomic status, respectively.

Table: Risk factors in breast cancer

Tableau 1 : Facteurs de risque de cancer du sein (D'après l'article *Breast Cancer* de Veronesi et al)

Par ailleurs, un autre facteur pronostique particulier est la réponse histologique complète, également appelée pathological Complete Response (pCR).

L'importance de la pCR a été mise en évidence récemment suite au recours plus fréquent à des thérapeutiques néo-adjuvantes. La définition de cette pCR varie selon les essais cliniques, avec essentiellement trois définitions proposées : ypT0/ypN0 (absence de résidu tumoral invasif ou in situ dans le sein et les ganglions) ou ypT0/is ypN0 (absence de résidu tumoral invasif dans le sein ou les ganglions, à l'exclusion donc de l'in-situ) ou ypT0/is (absence de résidu tumoral invasif dans le sein indépendamment de l'in-situ ou de l'atteinte ganglionnaire). La réponse histologique complète a été définie par le MD Anderson comme l'absence de résidu tumoral invasif après mastectomie et lymphadénectomie (ypT0/is, N0). Cette définition a par ailleurs été appuyée suite à l'étude de Cortazar et al en 2014 menée sur

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

11955 patientes ayant conclu à une amélioration de la survie chez les patientes ayant présenté une pCR définie comme ypT0 ypN0 ou ypT0/is ypN0 (13). Cette valeur pronostique est d'ailleurs nettement majorée dans les tumeurs de sous-types agressifs : tumeurs triple-négatives ou HER2 positives.

Cet impact majeur de la pCR après chimiothérapie néoadjuvante sur la survie globale avait déjà été mise en évidence en 2008 par Rastogi et al, comme illustré sur la Figure 1 (14).

Ces résultats ont été renforcés par l'étude de Symmans et al publiée en 2017, qui a mis en évidence la valeur pronostique sur la survie à long-terme de la masse tumorale résiduelle après chimiothérapie néo-adjuvante dans les trois phénotypes de cancers du sein : RH+/HER2-, triple-négatifs, et HER2+ (15). La pCR s'affiche donc comme un marqueur intermédiaire d'efficacité d'un traitement. Il a par ailleurs été souligné dans cette étude des taux de pCR plus importants dans le sous-type triple-négatif (35%) et HER2+ (45%) contre seulement 10% dans les cancers du sein RH+/HER2- signant la faible chimiosensibilité des tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux.

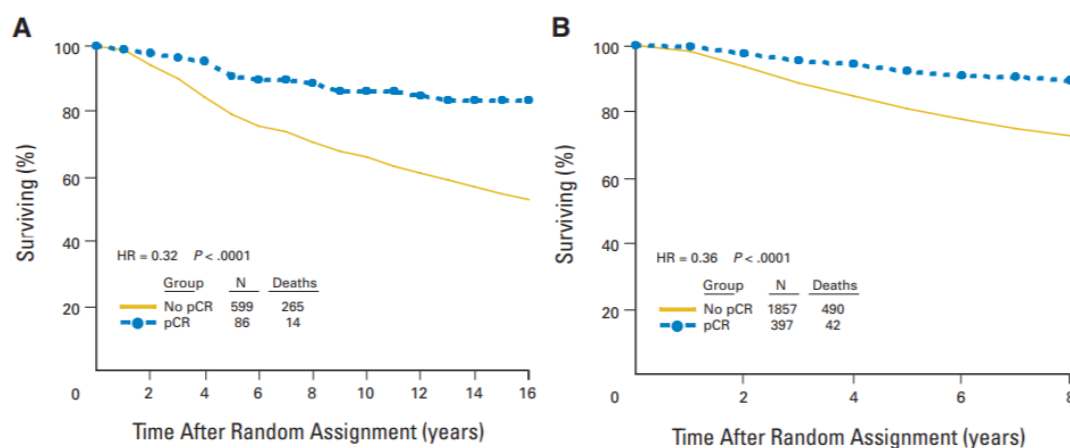


Figure 1 : Survie selon la réponse histologique complète chez les patientes ayant reçu une chimiothérapie néoadjuvante (D'après Rastogi et al, 2008)

Cette valeur pronostique bien établie de la réponse histologique a permis de stratifier les patientes selon leur niveau de risque, en proposant une chimiothérapie adjuvante par capecitabine orale pour les patientes présentant un résidu invasif sur la pièce opératoire (essai CREATE-X), avec un bénéfice en survie sans progression d'une part, et en survie globale :

89,2% de survie à 5 ans contre 83,6% (HR=0,59 ; p=0,01) (16). De la même manière, l'étude KATHERINE a permis de souligner le bénéfice en survie sans progression du T-DM1 avec une survie sans progression à 3 ans de 88,3% contre 77% avec le trastuzumab (HR=0,50 ; p<0,001) en adjuvant en lieu et place du trastuzumab pour les patientes ne présentant pas de pCR après chimiothérapie néo-adjuvante (17). Enfin un essai est actuellement en cours (PENELOPE-B) dans le cadre du cancer du sein RH+/HER2- avec la proposition du palbociclib surajouté à l'hormonothérapie en adjuvant pour les patientes présentant une maladie résiduelle invasive après chimiothérapie néo-adjuvante (18).

Ainsi, la pCR est actuellement un marqueur pronostique guidant la thérapeutique et constitue un moyen de personnalisation thérapeutique.

1.3 Transcriptomique et biologie moléculaire

Jusqu'à la fin des années 1990, seules les données histologiques et cliniques permettaient de classer les différents types de cancer du sein. Plus récemment, l'utilisation de techniques génomiques à haut débit comme les puces à Acide Désoxyribo-Nucléique (ADN) a permis d'y ajouter une caractérisation moléculaire.

Les premières études d'expression génique des cancers du sein ont mis en évidence au niveau moléculaire l'hétérogénéité de la maladie, déjà suspectée au vu des données cliniques et histologiques. Cinq sous-types majeurs exclusifs de cancers du sein ont été identifiés sur la base de l'expression transcriptionnelle d'environ 500 gènes (19) : luminal A, luminal B, basal, *ERBB2* et normal. Cette classification a ensuite été validée par plusieurs plateformes d'analyse transcriptionnelle, pour différentes populations de patientes et sur différentes formes anatomocliniques de la maladie. Elle permet de dégager des groupes de pronostic différent. Combinée à la classification histoclinique classique (20,21), elle représente une base nosologique, et confirme l'intérêt de l'analyse transcriptionnelle. Les sous-types luminaux A et basaux sont les plus affirmés et sont très différents l'un de l'autre (environ 20 % de gènes différenciellement exprimés).

1.3.1 Sous-type Luminal A

Les tumeurs lumineuses A représentent 50 à 60% de l'ensemble des cancers du sein. Les gènes exprimés dans les sous-types lumineux A sont associés au récepteur aux œstrogènes (Er) et à la différenciation luminale (*GATA3*). Sur le plan moléculaire, ils sont caractérisés par un ADN peu méthylé, une faible proportion de mutation *p53* (12%), peu de mutation de *PTEN*, peu de gain de *MDM2* (14%), et un génome diploïde et peu réarrangé. Les mutations *PIK3CA* sont les plus fréquentes au sein de ce sous-type (49%).

Le sous-type luminal A correspond sur le plan histopathologique à des cancers généralement de bas grade, exprimant des récepteurs hormonaux (soit des RE \geq 10% et RP \geq 20%), n'exprimant pas *ERBB2*, avec un Ki67 bas (<15-20%).

1.3.2 Sous-type Luminal B

Les sous-types lumineux B, représentant 10 à 20% des cancers du sein, sont caractérisés sur le plan moléculaire par un ADN méthylé, des mutations *p53* plus fréquentes (32%), des gains de *MDM2* (31%) ainsi que des tumeurs fréquemment aneuploïdes avec amplification de la cycline D1 (51%) et gains de *CDK4* (25%). Sur le plan histopathologique, on objective le plus souvent des tumeurs de grade 2 ou 3, avec des RE \geq 10% et des RP < 20%, HER2 positives ou négatives, avec un Ki67 élevé (>15-20%).

Le pronostic est l'élément clinique majeur de distinction entre ces deux entités lumineuses, avec de meilleurs taux de survie globale et de survie sans récurrence pour les tumeurs lumineuses A (22).

Concernant la prise en charge thérapeutique des tumeurs lumineuses, environ 70% de ces cancers seront guéris par chirurgie, radiothérapie et hormonothérapie, mais 30% nécessitent de la chimiothérapie car sont à risque métastatique, reflétant ainsi la très grande hétérogénéité biologique et pronostique des tumeurs lumineuses. Néanmoins, la classification actuelle histopathologique ne prédit pas précisément le risque métastatique, expliquant le recours aux signatures moléculaires pronostiques pour faciliter la stratégie thérapeutique dans certaines situations douteuses. Ces diverses signatures moléculaires étudient des panels de

gènes et des voies de signalisation différentes, avec très peu de gènes en commun mais une nette redondance de certaines fonctions, notamment de prolifération. Toutes les signatures moléculaires apportent une information pronostique supplémentaire chez les patientes N-, avec une performance inférieure chez les patientes N+ (23).

1.3.3 Sous-type Basal-like

Le sous-type basal-like est lui caractérisé sur le plan moléculaire par une forte prolifération, avec des mutations *p53* fréquentes (84%), de plus rares mutations *PIK3CA* (7%), des pertes de *PTEN* (35%), des pertes de *RBI* (20%), des gains de *MDM2* (14%). Ces tumeurs sont souvent aneuploïdes avec de nombreux gains et pertes chromosomiques, et un ADN globalement hypométhylé. Sur le plan histopathologique, les cancers basaux n'expriment ni les récepteurs hormonaux (RE<10% et RP<10%), ni *ERBB2*. Contrairement aux cancers luminaux, ils sont de haut grade et de mauvais pronostic. Très prolifératifs, ils expriment *EGFR* et/ou *CK5/6* ou *CK14*. Ce sous-type, traité classiquement par chimiothérapie, ne dispose pas encore de thérapie spécifique mais plusieurs cibles potentielles figurent dans la liste des gènes surexprimés, notamment des kinases. La définition formelle du sous-type basal-like repose sur le profil d'expression mais, pour des raisons pratiques, beaucoup assimilent le sous-type basal aux cancers du sein « triple négatifs » (n'exprimant pas les récepteurs hormonaux et ne surexprimant pas *ERBB2*). Néanmoins, tous les triples négatifs n'ont pas un profil transcriptomique de type basal-like, et 6 sous-types moléculaires de cancers du sein triples négatifs ont été décrits par Lehmann et al en 2011 par étude de profil d'expression génique (24). Ce véritable démembrement moléculaire a mis en évidence des basal-like de type 1, de type 2, des immunomodulateurs, des mésenchymateux-like, des mésenchymateux stem-like, ainsi que des luminaux exprimant les récepteurs aux androgènes (25). Ces différents sous-types de triple-négatifs ont leur impact pronostique et prédictif propre (25,26).

1.3.4 Sous-type HER2 enrichi

Le sous-type ERBB2 ou HER2 se caractérise par une forte expression de *ERBB2* et des gènes de l'unité d'amplification 17q12 autour de *ERBB2* (27). Sur le plan moléculaire, ces tumeurs sont caractérisées par un ADN méthylé, des mutations *p53* (75%), des mutations *PIK3CA* (42%) ainsi que des pertes de *PTEN* (19%) avec de fréquents gains de MDM2. Ces tumeurs sont fréquemment aneuploïdes avec une forte instabilité génomique. Sur le plan histopathologique, ce sont des tumeurs de grade 2 ou 3, qui n'expriment pas les récepteurs hormonaux, et surexpriment *HER2*. La détermination de la surexpression d'*HER2* est réalisée sur des coupes tissulaires de la tumeur initiale par immunohistochimie (IHC). Si le matériel tissulaire de la tumeur primitive n'est pas disponible, l'analyse peut être réalisée sur un reliquat tumoral après chimiothérapie ou sur une localisation ganglionnaire ou métastatique. Les patientes pourront bénéficier d'un traitement ciblant HER2 en cas de positivité 3+ (c'est-à-dire une fixation membranaire intense, avec marquage fort, homogène, se situant dans plus de 10% des cellules tumorales). En cas de surexpression modérée 2+ (marquage complet avec intensité faible à modérée de plus de 10% des cellules tumorales ou marquage complet fort de moins de 10% des cellules tumorales, ou marquage incomplet modéré à fort de plus de 10% des cellules tumorales) et/ou en cas de discordance avec les autres caractéristiques biologiques de la tumeur, une hybridation in situ par fluorescence (FISH) doit être demandée (recherche de l'amplification du gène *HER2*). Une amplification en FISH est globalement considérée significative lorsqu'il y a plus de 4 copies du gène *HER2* par noyau et que le ratio nombre de gènes de *HER2*/nombre de chromosomes 17 est supérieur à 2. D'autres cas considérés comme limites ont pu être catégorisés comme positifs ou négatifs selon les dernières recommandations de l'ASCO 2018 (28). Ce sous-type peut être traité par un anticorps qui inhibe la voie *ERBB2* comme le trastuzumab et le pertuzumab, ou un inhibiteur de tyrosine kinase comme le lapatinib (29,30).

1.3.5 Classification génomique : Caractéristiques et Limites

Les caractéristiques génomiques des différents sous-types de cancers du sein sont résumées sur le tableau 2.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Cette classification moléculaire présente plusieurs limites. Tout d'abord, de nombreux cas de cancers du sein ne peuvent être inclus dans ces sous-types et demandent à être mieux caractérisés. Enfin, il n'existe pas de superposition parfaite entre les classifications moléculaires et l'évaluation histopathologique sur laquelle repose actuellement essentiellement les décisions thérapeutiques.

En effet, en routine clinique nous basons actuellement nos décisions thérapeutiques sur les facteurs pronostiques cliniques et histologiques, notamment immunohistochimiques. Cette classification, essentiellement basée sur l'expression des récepteurs hormonaux et la surexpression d'HER2 est imparfaite mais permet de retrouver l'esprit de la transcriptomique en permettant de stratifier nos patientes selon leur niveau de risque, et à fortiori, leur proposer la stratégie thérapeutique la plus adaptée. Le tableau 3 illustre la définition simplifiée en routine clinique des différents sous-types moléculaires de cancer du sein.

Sous-types	Luminal A	Luminal B	Tumeurs basales	HER2+
Voie TP53	Mut TP53 (12 %) ; gain de MDM2 (14 %)	Mut TP53 (32 %) ; gain de MDM2 (31 %)	Mut TP53 (84 %) ; gain de MDM2 (14 %)	Mut TP53 (75 %) ; gain de MDM2 (30 %)
Voie PIK3CA/PTEN	Mut PIK3CA (49 %) ; Mut/perte PTEN (13 %) ; perte INPP4B (9 %)	Mut PIK3CA (32 %) ; Mut/perte PTEN (24 %) ; perte INPP4B (16 %)	Mut PIK3CA (7 %) ; Mut/perte PTEN (35 %) ; perte INPP4B (30 %)	Mut PIK3CA (42 %) ; Mut/perte PTEN (19 %) ; perte INPP4B (30 %)
Voie RB1	AMP cycline D1 (29 %) ; gain CDK4 (14 %) ; minime expression de CDKN2C, haute expression de RB1	AMP cycline D1 (58 %) ; gain CDK4 (25 %)	Mut/perte de RB1 (20 %) ; AMP cycline E1 (9 %) ; haute expression de CDKN2A ; minime expression de RB1	AMP cycline D1 (38 %) ; gain CDK4 (24 %)
Expression ARNm	Taux de RE plus élevé, prolifération faible	Taux de RE plus bas, prolifération forte	Signature basale ; prolifération forte	Signature d'AMP HER2 ; prolifération forte
Nombre de copies	La plupart diploïdes ; peu d'instabilité ; 1q, 8q, gain 8p11 ; 8p, perte 16q ; AMP 11q13.3 (24 %)	La plupart aneuploïdes ; surtout des AMP focales ; 1q, 8q, gain 8p11 ; 8p, perte 16q ; AMP 11q13.3 (51 %) ; AMP 8p11.23 (28%)	La plupart aneuploïdes ; fort taux d'instabilité génomique ; 1q, gain 10p ; 8p, perte 5q ; gain focal MYC (40 %)	La plupart aneuploïdes ; fort taux d'instabilité génomique ; 1q, gain 8q ; perte 8p ; AMP focale ERBB2 17q12 (71 %) ; TP53 (75 %) ; PIK3CA (42 %) ; PIK3R1 (8 %)
Mutations de l'ADN	PIK3CA (49 %) ; TP53 (12 %) ; GATA3 (14 %) ; MAP3K1 (14 %)	TP53 (32 %) ; PIK3CA (32 %) ; MAP3K1 (5 %)	TP53 (84 %) ; PIK3CA (7 %)	TP53 (75 %) ; PIK3CA (42 %) ; PIK3R1 (8 %)
Méthylation de l'ADN	–	Phénotype hyperméthylé	Hypométhylation	–

Tableau 2 : Caractéristiques génomiques des différents sous-types de cancer du sein. (D'après the Cancer Genome Atlas Network)

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

	ER	PR	HER2	Ki-67
Luminal A	+	+	-	Bas
Luminal B	+	+	-	Élevé
Luminal B	+	Faible	-	
Luminal B HER2 positif	+	+	+	
HER2 positif	-	-	+	
Triple-négatif ou basal-like	-	-	-	

Tableau 3 : Définition des sous-types moléculaires en routine clinique

ER = Récepteurs aux œstrogènes

PR = Récepteurs à la progestérone

HER2 = Human Epidermal Growth Factor Receptor 2.

1.4 Biologie moléculaire et application clinique

Il y a une dizaine d'années, seules la recherche d'expression des récepteurs hormonaux et la recherche de surexpression de *HER2* permettaient d'orienter les choix de traitement des patientes prises en charge pour un cancer du sein. L'amélioration constante des techniques de biologie moléculaire sur les dernières années ont permis d'affiner les connaissances sur la biologie tumorale des cancers du sein, avec des répercussions grandissantes sur la prise en charge thérapeutique des patientes. En effet, la présence de certaines mutations tumorales somatiques objectivées par séquençage ou digital droplet polymerase chain reaction (ddPCR) permettent aujourd'hui l'accès à des thérapies ciblées, enrichissant alors l'essor de la théranostique et ouvrant la voie à un traitement de plus en plus personnalisé.

Ainsi, la détection d'une mutation germinale *BRCA* dans les cancers du sein *HER2* négatifs métastatiques, permet aujourd'hui l'accès aux anti-PARP en 2^e ligne, compte-tenu de résultats favorables en survie en comparaison aux chimiothérapies standards (31–33). Par ailleurs, la recherche d'un déficit des gènes de recombinaison homologue chez les patientes prises en charge pour un cancer du sein triple négatif, nommées patientes HRD ou encore *BRCAness*, est actuellement à l'étude pour évaluer notamment l'efficacité des anti-PARP associés ou non à l'*AZD1775* dans cette sous-entité (34). De la même manière, les mutations *Estrogen Receptor 1* ou *ESR1*, mécanisme phare de résistance acquise aux AA détecté par

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

ddPCR (35), sont à ce jour recherchées dans l'essai de phase III PADA-1, afin d'étudier le bénéfice d'un changement thérapeutique précoce des patientes prise en charge pour un cancer du sein RH+ HER2 négatif métastatique sous AA + palbociclib vers fulvestrant + palbociclib avant toute progression tumorale objectivée (36). Le bénéfice d'un tel changement précoce basé uniquement sur la biologie moléculaire signerait la nécessité d'intégrer cette recherche mutationnelle en routine clinique.

Le développement récent de la génomique du cancer du sein a ainsi révélé son hétérogénéité. La segmentation moléculaire a conduit à mettre en place de nombreux essais thérapeutiques basés sur le profil moléculaire des tumeurs, afin d'orienter les patientes vers la molécule la plus adaptée.

2. ADN tumoral circulant : Concept biologique et méthodes de détection.

Comme évoqué précédemment, la médecine de précision dans le cancer du sein requiert l'identification d'altérations moléculaires oncogéniques. Néanmoins, ces altérations moléculaires varient au fil des traitements administrés, et le ciblage tend donc à être poursuivi tout au long de l'évolution tumorale. Afin d'éviter le recours au caractère invasif de nouvelles biopsies, le concept d'ADN tumoral circulant ou « biopsies liquides » est apparu comme une alternative idéale. En effet, au cours du développement tumoral, des cellules tumorales vont mourir, se désagréger, et libérer dans le sang des fragments de leur matériel génétique : de l'ADN tumoral circulant (ADNtc).

La détection de l'ADNtc représente un véritable défi puisque l'ADNtc est dilué dans l'ADN libre circulant (ADNlc). En effet, les niveaux d'ADNtc mesurés par la fraction de variant allélique (proportion de copies d'ADN mutants sur le taux d'ADNlc total) varient profondément, de plus de 25 % à moins de 0,01 %. Cette large variation dépend aussi bien du type tumoral (fréquence élevée de détection d'ADNtc dans les cancers du côlon, de la vessie et de l'ovaire contre une détection très rare dans les tumeurs cérébrales de moins de 10 %) que du stade localisé ou métastatique (37,38). Cette importante variation des niveaux d'ADNtc requiert des méthodes de haute précision, très sensibles, et qui se sont développées principalement depuis une dizaine d'années. Les méthodes classiques fondées sur la PCR en temps réel et la détection des mutations à l'aide de sondes ou amorces spécifiques ont des seuils de sensibilité de l'ordre de 0,1–1 % (39). Ces technologies d'analyse globale sont simples à mettre en œuvre et compatibles sans optimisation technologique à l'analyse en routine des plasmas. Mais elles présentent des désavantages dans le cas de mélanges complexes. En effet, l'ADN issu de plasma est un mélange disproportionné entre de l'ADN issu de cellules normales et cancéreuses. Si l'ADN tumoral ne représente qu'une infime partie de cet ADN total libre circulant, alors il risque d'échapper à l'analyse. Le développement de techniques comme la PCR digitale (dPCR) [limite de détection théorique de 0,001–0,05 % d'ADN muté] (40) constitue une méthode idéale pour la détection de mutations récurrentes, telles que *PIK3CA* ou *ESR1*. Les avancées technologiques récentes pour le séquençage haut débit également appelé Next-Generation Sequencing (NGS) ont permis d'importants gains de sensibilité (0,1 % environ), avec l'avantage de rechercher des mutations sur des dizaines de

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

locus en parallèle, ce qui permet de proposer des panels d'analyse communs à plusieurs types de cancers différents (41). À ce jour, les cinq techniques d'analyse d'ADNtc les plus usitées sont la dPCR, le BEAMing (Beads, Emulsion, Amplification and Magnetics), la SafeSeqs (Safe Sequencing system), l'IDES (Integrated Digital Error Suppression) et le Duplex Sequencing (42). Par ailleurs, l'ADNtc s'avère être de taille moindre que l'ADNlc. Une étude récente a mis à profit ce différentiel de taille en objectivant une amélioration notable de détection de l'ADNtc en sélectionnant des fragments de taille prédéfinie de 90 à 150 paires de bases (43). Au-delà de méthodes de détection ultrasensibles applicables sur plasma, l'identification de l'ADNtc parmi l'ADNlc impose de connaître des altérations génomiques spécifiques du cancer. Or, le cancer du sein est une maladie hétérogène, au niveau moléculaire et clinique, traduisant l'absence d'anomalie génomique unique.

En l'espace de quelques années seulement, l'ADNtc dans le cancer du sein est passé de la recherche fondamentale pure, à une très prochaine utilisation en routine clinique pour le choix thérapeutique et l'évaluation de la résistance au traitement. En effet, les progrès techniques et l'utilisation généralisée du séquençage à haut débit, en cas de détection d'altérations génétiques inconnues, ou de la PCR digitale (dPCR) en cas de détection d'altérations génétiques connues, ont permis la détection d'une très faible quantité d'ADN tumoral dans le sang. L'utilisation de l'ADNtc permet de surveiller la charge tumorale sous traitement, mais également d'identifier des cibles thérapeutiques, variables au cours de l'histoire tumorale. Une amélioration de la sensibilité de détection de l'ADNtc dans les cancers du sein au stade précoce, caractérisés par une faible quantité d'ADNtc, représente actuellement un objectif fondamental, sous-tendu par l'amélioration constante des techniques de détection (43,44).

L'ADN tumoral circulant est de développement récent dans le cancer du sein, mais l'intérêt des mutations circulantes *ESR1* semble important, tout comme les données récentes concernant les mutations circulantes *PI3KCA*.

3. Mutations PIK3CA

3.1. Généralités

Le cancer apparaît de plus en plus comme une maladie de la signalisation cellulaire (45) et cette signalisation s'exerce en grande partie en faisant intervenir en amont la famille des récepteurs *Human Epidermal growth factor Receptor* (HER). La dimérisation de ces récepteurs va provoquer leur activation. Cette dimérisation s'effectue soit entre récepteurs d'un groupe identique pour former un homodimère, soit entre récepteurs d'un groupe différent pour former un hétérodimère. Une fois le récepteur activé, une cascade de signalisation se propage en aval du récepteur. L'activation est définitive et seule l'internalisation puis le recyclage ou la dégradation par voie lysosomale mettront fin à cette activation. Différentes voies de signalisation sont impliquées en aval des HER, en particulier la voie de PI3Kinase (PI3K) et la voie des MAP kinases (MAPK). La voie PI3K/AKT/mTOR est une voie de signalisation intracellulaire, impliquée dans la régulation de la croissance et la prolifération, représentant la voie de stimulation oncogénique la plus fréquemment activée dans les cancers du sein. Le premier effecteur de cette voie est l'enzyme *Phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) (46–50).

De nombreux articles décrivent le rôle majeur de PI3K dans le développement de résistances aux thérapies ciblées préexistantes, notamment l'endocrinothérapie (51). Par ailleurs, il a été rapporté que les dysfonctionnements de cette protéine, liés à des anomalies géniques pourraient constituer des biomarqueurs prédictifs de la réponse ou de la résistance aux thérapies ciblées anti-HER2 et anti-mTOR (52,53).

La reconnaissance d'une phosphotyrosine d'un récepteur activé par une protéine adaptative, va mettre en œuvre la voie PI3K. Cette voie comporte des activations séquentielles de kinases, aboutissant à des effets multiples sur la transcription des gènes impliqués dans la survie, la différenciation ou la prolifération cellulaire (54,55). Cette voie de signalisation fait intervenir PI3K dont le rôle est de phosphoryler le *phosphatidylinositol-2-phosphate* (PIP2) en *phosphatidylinositol-3 phosphate* (PIP3). Cette phosphorylation activatrice est finement régulée par la phosphatase PTEN (*Phosphatase and tensin homolog*) dont le rôle est de déphosphoryler PIP3 en PIP2 (*Figure 2*). En cas de suractivation de PI3K et/ou de la perte d'expression de PTEN, la cellule entre alors dans un cycle anormal

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

aboutissant à une augmentation de la prolifération et de la croissance. PI3K est un hétérodimère composé de deux sous unités : une sous-unité régulatrice (p85, PIK3R1) dotée d'un domaine SH2 permettant la reconnaissance des phosphotyrosines des récepteurs à tyrosine kinase et une sous-unité catalytique (p110, *PIK3CA*) à activité lipide kinase (Figure 3).

La sous-unité catalytique de PI3K est codée par le gène *PIK3CA* (56). Ce gène de 34 kb est situé sur le chromosome 3q26.3 et est constitué de 20 exons codant 1068 acides aminés et donnant une protéine de 124 KDa (Figure 4). En particulier, la région codant pour le domaine hélicoïdal de p110 se situe sur l'exon 9 et le domaine kinase sur l'exon 20. Cette voie est interconnectée à la voie des MAPK via la protéine RAS, par conséquent, PI3K peut être activée par RAS, ce qui en thérapeutique pourrait jouer un rôle particulièrement important.

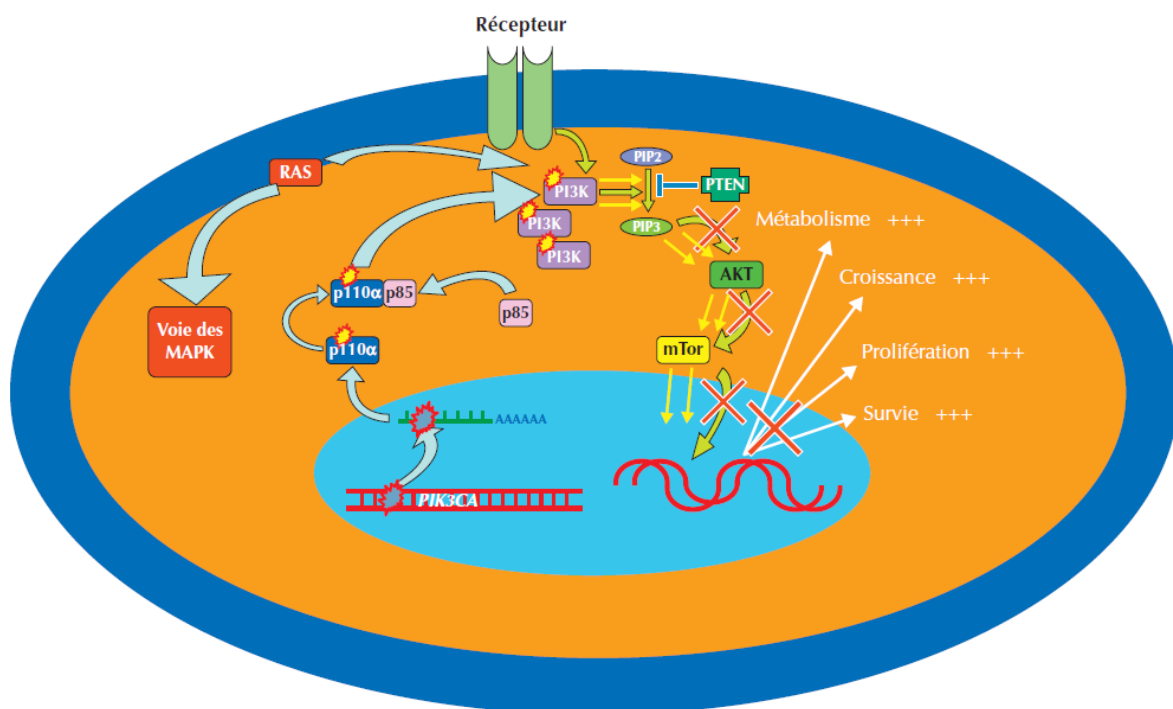


Figure 2 : Place de PI3K dans la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR (D'après Harlé et al. 2013)

Une mutation activatrice du gène *PIK3CA* (anomalie représentée par le symbole en étoile rouge et jaune) a pour conséquence une suractivation de PI3K. La régulation naturelle effectuée par PTEN devient alors insuffisante, ce qui provoque un emballement de la voie de signalisation avec des rétrocontrôles insuffisants aussi bien au niveau d'AKT que de mTOR. Ces dérégulations se traduisent par une augmentation du métabolisme, de la croissance, de la prolifération et de la survie cellulaire. La voie PI3K est interconnectée à la voie des MAPK par la protéine RAS.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

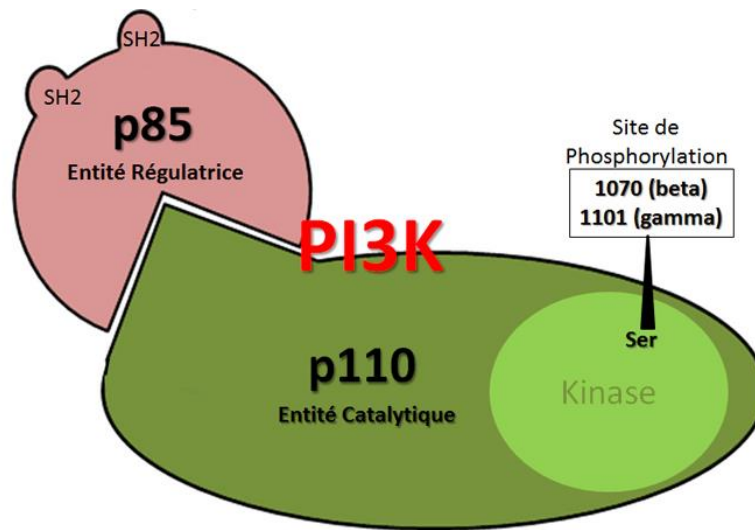


Figure 3 : Schéma de la protéine PI3K avec ses deux sous-unités (D'après Parker et al. 1992)

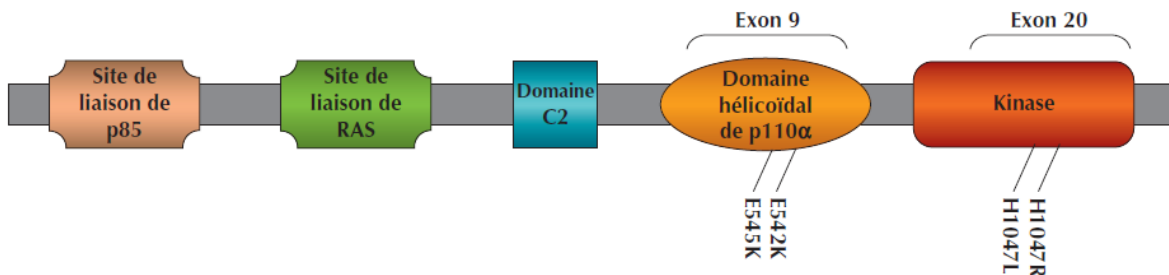


Figure 4 : Structure du gène *PIK3CA* (D'après Harlé et al. 2013)

Le domaine hélicoïdal de p110_ est codé au niveau de l'exon 9 du gène et le domaine kinase au niveau de l'exon 20. Les mutations hotspots les plus fréquemment rencontrées sont E542K et E545K pour l'exon 9 et H1047R et H1047L pour l'exon 20.

Il existe de nombreuses altérations mutationnelles et non mutationnelles responsables de l'activation de la voie PI3K/AKT. PI3K est une oncoprotéine majeure (57). Elle joue un rôle important dans la diffusion des métastases (58). Sa mutation est rencontrée dans 22 à 30% des cancers du sein (48,59), et n'est pas acquise sous pression de sélection, contrairement aux mutations *ESR1*. Néanmoins, le statut mutationnel *PIK3CA* peut varier au fil de l'histoire évolutive tumorale, et principalement au fil des divers traitements administrés (60), signant alors l'engouement pour leur recherche en circulant, par « biopsie liquide ».

Le taux mutationnel varie selon le sous-type moléculaire de cancer du sein avec 49% de mutations retrouvées au sein des luminal A, 32% au sein des luminal B, 7% au sein des basal-like, et 42% au sein des HER2 enrichis (61,62). En particulier, quatre mutations

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

activatrices, dites « *hotspots* », sont fréquemment rencontrées (*Figure 5*) au niveau de trois acides aminés : E542K (l'acide glutamique en 542 est remplacé par la lysine), E545K (l'acide glutamique en 545 est remplacé par la lysine) et H1047L (l'histidine en 1047 est remplacée par la leucine) et H1047R (l'histidine en 1047 est remplacée par l'arginine). La plupart des mutations concernent un hot-spot unique, mais environ 10% des mutations sont doubles, responsables d'une stimulation oncogénique encore plus active (63).

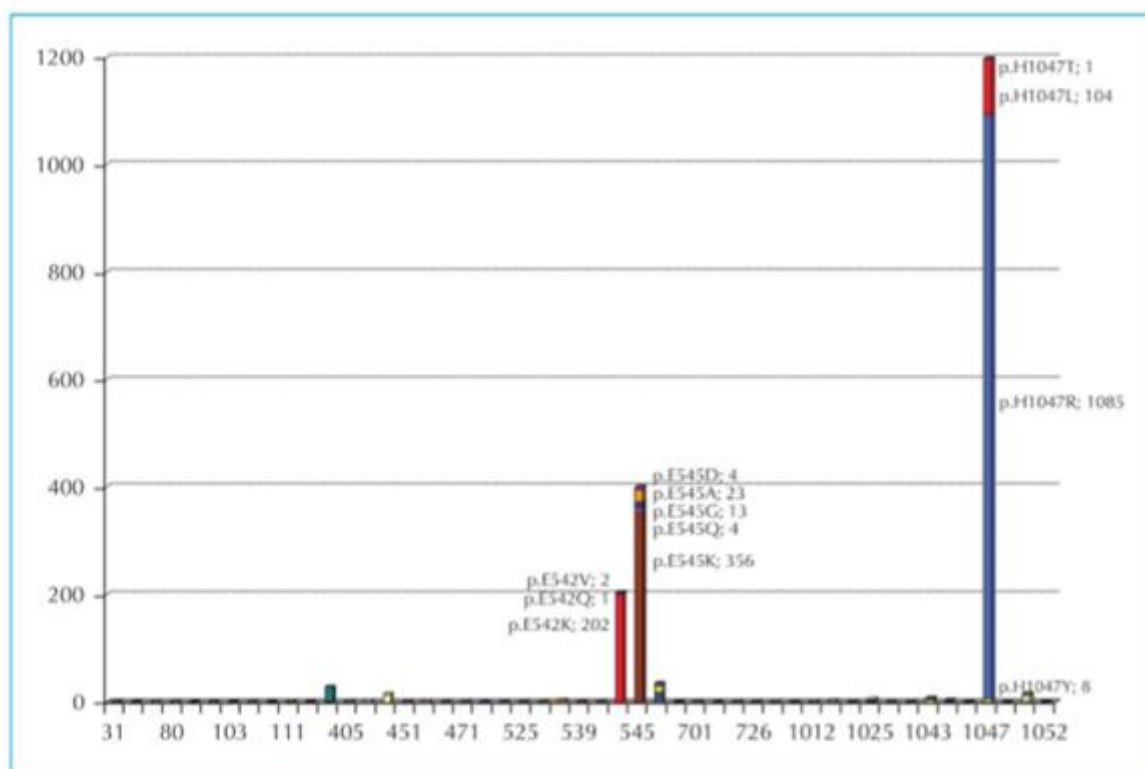


Figure 5 : Répartition des différentes mutations de *PIK3CA* dans les cancers du sein (SANGER COSMIC)
La fréquence de chaque type de mutation est représentée par une barre de l'histogramme. Les mutations les plus fréquemment décrites sont sur l'exon 9 (E542K, E545K) et sur l'exon 20 (H1047R et H1047L).

La dérégulation de la voie PI3K/AKT peut être notamment due à une inactivation de la phosphatase PTEN liée à la perte de son expression, mais le mécanisme le plus fréquent réside en la présence de mutations activatrices de la sous-unité catalytique p110_ de PI3K, représentant 30% des causes de dérégulation de cette voie.

Les mutations du gène *PIK3CA* augmentent l'activité kinase de PI3K contribuant ainsi au processus de tumorigénèse. Dans plus de 90 % des cas, les mutations du gène *PIK3CA* sont

localisées sur l'exon 9 (E542K, E545K) codant la région hélicoïdale de la sous-unité catalytique ou sur l'exon 20 (H1047R et H1047L) codant le domaine kinase de la sous-unité catalytique (64) (*Figure 5*).

3.2. Méthodes de détection des mutations *PIK3CA*

3.2.1. Somatique

De nombreuses techniques de biologie moléculaire permettent aujourd'hui d'étudier les mutations du gène *PIK3CA* sur les exons 9 et 20. Une des plus usitées actuellement est la digitale PCR permettant de quantifier ces mutations situées sur des hotspots avec une très grande sensibilité. Ainsi, en utilisant des amorces spécifiques des quatre principales mutations du gène *PIK3CA* (E542K, E545K, H1047L et H1047R), il est alors possible de détecter environ 95 % des mutations rencontrées dans le cancer du sein. Plus récemment, des techniques utilisant l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) ont été utilisées pour la détection des mutations du gène *PIK3CA* (65) et des techniques d'immunohistochimie permettent d'évaluer l'expression des sous-unités p85_ et p110_ (66). Les mutations *PIK3CA* sont bien entendues également identifiables en NGS, avec une excellente sensibilité, lors de l'analyse conjointe d'un panel de gènes.

3.2.2. Circulant

Ces dernières années ont vu naître l'essor de ces biopsies liquides, au vu de leurs nombreux avantages : caractère non invasif, reflet de l'hétérogénéité tumorale, répétition et reproductibilité, ainsi qu'un monitoring pouvant notamment parfois orienter la thérapeutique. Cet essor a bien entendu été sous-tendu par l'amélioration des techniques de détection moléculaire, notamment avec l'apport de la digitale PCR ayant permis une augmentation de la puissance analytique, nécessaire pour la détection d'ADN tumoral en circulant. Plusieurs essais récents ont confirmé une concordance notable entre mutations *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant (67,68).

Les données de l'essai BELLE-2 ont par ailleurs montré que la concordance entre détection de la mutation *PIK3CA* réalisée par BEAMing au niveau tumoral et circulant était de 77%, renforçant ainsi l'applicabilité en routine clinique de cette recherche mutationnelle en circulant (69).

3.3. Valeur pronostique des mutations *PIK3CA* dans les cancers du sein

Depuis leur première découverte en 2004, plusieurs études se sont intéressées à la valeur pronostique des mutations du gène *PIK3CA*, demeurant controversée compte-tenu de résultats contradictoires. En effet, bien que les mutations *PIK3CA* soient plus fréquentes au sein des tumeurs RH+ HER2- et soient associées avec d'autres caractéristiques de bon pronostic (70), Aleskandarany et al ont objectivé une survie sans progression plus courte (HR=1,318 ; $p<0,001$) chez les patientes mutées *PIK3CA* indépendamment des autres facteurs pronostiques excepté le grade (71). Par ailleurs l'analyse poolée menée sur 10329 patientes par Zardavas et al en 2018 a conclu en analyse univariée à une association significative entre les mutations *PIK3CA* et la survie sans progression (HR=0,77 ; $p=0,001$) et survie globale (HR=0,9 ; IC[0,82-0,99]), mais avec un effet pronostique moindre après ajustement sur les autres facteurs pronostiques connus, notamment avec une différence non significative concernant la survie globale (72).

3.4. Valeur prédictive et approche théranostique des mutations *PIK3CA* dans les cancers du sein

Outre le mécanisme décrit de la résistance à l'endocrinothérapie engendré par ces mutations *PIK3CA* (51), elles pourraient être également un facteur prédictif de mauvaise réponse aux thérapies anti-HER2 telles que le trastuzumab ou le lapatinib, mais leur impact sur la survie sans progression et la survie globale demeure incertain. (70,73). En effet, deux études à grande échelle ont notamment montré que les mutations *PIK3CA* étaient significativement associées avec un taux de pCR plus bas de 16,2% versus 29,6% dans le groupe sauvage ($p<0,001$) dans l'étude de Loibl et al, et de 28,6% versus 53,1% dans le groupe

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

sauvage ($p=0,012$) dans l'étude de Majewski et al, chez des patientes traitées en néoadjuvant par du trastuzumab et/ou lapatinib pour un cancer du sein localisé HER2+, sans différence objectivée toutefois en termes de survie sans progression ou survie globale (74,75).

Par ailleurs, concernant les inhibiteurs de mTOR, première drogue utilisée en pratique clinique ciblant la voie PI3K, l'ajout de l'everolimus à l'exemestane a démontré un bénéfice en terme de survie sans progression avec une SSP à 7,8 mois, versus 3,2 mois dans le groupe sous exemestane seul ($HR=0,45$; $p<0,0001$), indépendamment du statut mutationnel de *PIK3CA*. Il semblerait donc que les mutations circulantes de *PIK3CA* ne prédisent pas de meilleure réponse à cette thérapeutique (76).

Plus récemment ont été développés des inhibiteurs de PI3K, se divisant en deux groupes : les pan-inhibiteurs de PI3K tels que le buparlisib et le pictilisib ciblant les 4 isoformes de la sous-unité catalytique p110 de PI3K, et les inhibiteurs sélectifs de la sous-unité catalytique p110alpha de PI3K tels que l'alpelisib et le tselisib.

Plusieurs études de phase II se sont intéressées à la valeur prédictive de réponse aux anti-PI3K des mutations *PIK3CA* sur tissu tumoral en phase précoce, en comparant en néoadjuvant l'adjonction d'un anti-PI3K à une hormonothérapie versus une hormonothérapie seule pour des cancers du sein RH+HER2-. Il s'avère qu'en phase précoce, il n'a pas été mis en évidence de valeur prédictive des mutations *PIK3CA* sur la réponse au tselisib, au pictilisib, ni à l'alpelisib (77–79).

A contrario, en phase métastatique a été mis en évidence la valeur prédictive de bonne réponse au buparlisib et à l'alpelisib des mutations *PIK3CA*. En effet, de manière intéressante, l'étude BELLE-2 a montré que le statut *PIK3CA* sur la tumeur ne permettait pas de prédire le bénéfice de l'addition du buparlisib au fulvestrant mais a objectivé une meilleure valeur prédictive des mutations *PIK3CA* en circulant sur ce bénéfice. Néanmoins, il est important de préciser que la plupart des échantillons tissulaires provenaient de biopsies archivées depuis plusieurs années avant le début de l'étude, et que le statut mutationnel *PIK3CA* a pu bien évidemment varier au cours du temps et au fil des traitements administrés (69). Cette valeur prédictive a été confirmée par l'étude BELLE-3, aussi bien en circulant que sur tissu tumoral (80). Néanmoins, compte-tenu d'un bénéfice considéré comme modeste en survie-sans-progression (SSP) et en survie globale (SG) associé à un profil de toxicité notable, avec notamment 63% de toxicités de grade 3 rapportées et 14% de grade 4, cette molécule n'a pas obtenu d'approbation de la FDA. L'étude de phase 2 FERGI n'a elle pas objectivé de

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

différence avec l'ajout du pictilisib quel que soit le statut mutationnel, avec toujours un profil de toxicité notable de ce pan-inhibiteur de PI3K (81).

Concernant les inhibiteurs sélectifs de PI3K, l'étude SOLAR-1 a également mis en évidence la valeur prédictive de bonne réponse à l'alpelisib des mutations *PIK3CA* qu'elles soient circulantes ou sur tissu tumoral, avec un profil de toxicité acceptable de la molécule. Néanmoins, dans l'étude de sous-groupe il semblerait que les mutations circulantes *PIK3CA* permettrait de sélectionner encore davantage les patientes allant bénéficier de l'ajout de l'alpelisib (82). Compte-tenu de cette efficacité et du profil de toxicité acceptable, une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) est désormais disponible pour cette molécule depuis Septembre 2019 pour les cancers du sein localement avancés ou métastatiques RH+HER2- avec mutation *PIK3CA* en progression après au moins une ligne de traitement en phase métastatique incluant une anti-aromatase, à l'exclusion des cancers du sein inflammatoires. Par ailleurs, une autre étude basée sur l'ajout du tselisib a également montré un bénéfice sur la SSP pour les patientes mutées *PIK3CA* mais n'a pas abouti à une poursuite du développement de la molécule compte-tenu d'un profil de toxicité défavorable (83).

Etant donné l'exclusion des cancers du sein inflammatoires de la plupart des études portant sur les inhibiteurs de PI3K, notamment SOLAR-1 ayant abouti à l'ATU de l'alpelisib, le paysage mutationnel *PIK3CA* demeure très peu exploré au sein de ce sous-groupe.

4. Cancers du sein inflammatoires

4.1. Epidémiologie, définition, caractéristiques histocliniques et prise en charge thérapeutique

Les cancers du sein inflammatoires (CSI), constituent une entité rare de cancers du sein localement avancés, représentant 2 à 4% de tous les cas de cancers du sein (84). Malgré sa rareté, le cancer du sein inflammatoire contribue à 10% du taux de mortalité par cancer du sein (85), et est caractérisé par une agressivité notable, des résultats de survie médiocres, ainsi qu'un plus jeune âge au diagnostic (86,87).

En effet l'âge médian des femmes présentant un CSI s'élève à 57 ans, contre 61,9 ans pour l'ensemble des cancers du sein.

L'incidence des CSI tend à croître ces dernières années, notamment parmi les femmes caucasiennes (88). Les données sur les facteurs de risque de CSI sont limitées, mais on observe une plus grande incidence de CSI chez les femmes jeunes afro-américaines, et un indice de masse corporelle (IMC) élevé s'avère être positivement associé au diagnostic de CSI relativement aux formes non inflammatoires (89).

Initialement décrit par Charles Bell en 1814 (90), le diagnostic du CSI, considéré comme un T4d selon la classification TNM, repose essentiellement sur des critères cliniques ; La définition la plus communément admise, est celle de l'American Joint Committee of Cancer (AJCC) qui le décrit comme étant une entité clinicopathologique caractérisée par un érythème diffus associé à un œdème, souvent sans masse palpable sous-jacente, comme en témoigne la taille tumorale inconnue chez 75.2% des CSI (91).

Le CSI est le plus souvent associé sur le plan histologique avec du carcinome canalaire infiltrant sans sous-type moléculaire particulier, mais a été également retrouvé parmi tous les sous-types histologiques, incluant le lobulaire, le médullaire, le papillaire, le mucineux, le comédocarcinome, et la maladie de Paget (89). Les patientes présentant un CSI ont par ailleurs plus fréquemment une atteinte ganglionnaire et 30% de ces patientes sont d'emblée métastatiques. Les CSI sont également plus fréquemment associés à une tumeur de haut grade, ainsi que des récepteurs hormonaux négatifs. En effet, les cancers du sein n'expriment

pas les récepteurs hormonaux représentent 22.5% de tous les cas de cancers du sein comparés à 45.6% des cancers du sein inflammatoires (92).

Leur prise en charge actuelle nécessite une approche multidisciplinaire coordonnée et inclut habituellement pour les formes localement avancées, une chimiothérapie néo-adjuvante, associant 4 EC et 4 DOCETAXEL ou 12 PACLITAXEL, plus ou moins associée à une thérapie anti-HER2 avec les taxanes, puis une chirurgie de type mammectomie avec curage axillaire si marges de résection saines possibles, suivie d'une radiothérapie loco-régionale (93). Cette approche thérapeutique a amélioré de manière significative la survie des patientes, mais le pronostic demeure sombre avec un taux de survie globale à 5 ans avoisinant les 70% versus 88% ($p=5,21 \times 10^{-7}$) dans les cancers du sein non-inflammatoires localement avancés (94). Obtenir une réponse histologique complète confère un bénéfice en survie pour tous les sous-types moléculaires de CSI (95). Néanmoins, la réponse thérapeutique à la chimiothérapie néo-adjuvante, indispensable avant d'envisager le temps chirurgical, est difficilement prévisible. Cette hétérogénéité de réponse a conduit à chercher à mieux comprendre la biologie des CSI.

4.2. Biologie moléculaire du cancer du sein inflammatoire

Depuis une vingtaine d'années, plusieurs études ont tenté de fournir une description de ces tumeurs au niveau moléculaire (96), mais ont été limitées par la rareté de cette entité, et le peu de matériel disponible à partir des biopsies pré-traitement. Bien que les CSI soient généralement caractérisés par une importante instabilité génomique, aucun mécanisme ou altération spécifique aux CSI n'a été identifié pour le moment, et les différences moléculaires objectivées sont souvent liées à la répartition différente des sous-types moléculaires au sein des CSI. En effet, on objective une fréquence moindre des luminal A au sein des CSI, et a contrario, une fréquence plus importante des tumeurs surexprimant HER2, en comparaison aux cancers du sein non inflammatoires (CSNI) (97).

Un récent travail de Matsuda et al, a permis d'identifier les mutations somatiques les plus fréquentes dans les CSI : *TP53* (75%), *PIK3CA* (42%), et *ERBB2* (17%), avec une prévalence plus importante qu'au sein des CSNI (98).

Néanmoins, il n'existe à l'heure actuelle que très peu de données concernant l'ADNtc au sein des CSI compte-tenu de leur exclusion de la plupart des essais cliniques. A notre

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

connaissance, une seule étude récente publiée en Février 2020 portant sur 19 patientes suivies dans le cadre d'un CSI de stade III ou IV s'est intéressée à la détection mutationnelle sur échantillons tissulaires et en circulant par NGS.

II. Objectif

Concernant les CSI, une des problématiques réside en une extension notable locale de la pathologie néoplasique, source d'une potentielle hétérogénéité tumorale, avec a fortiori, une biopsie initiale de représentativité limitée. De plus, la plupart des études récentes sur la valeur prédictive de réponse aux anti-PI3K des cancers du sein mutés *PIK3CA* excluaient les cancers du sein inflammatoires, notamment l'étude SOLAR-1 ayant abouti à l'ATU de l'alpelisib, faisant de cette entité un domaine d'intérêt jusqu'alors peu exploré. Enfin, les données sur l'ADNtc dans les CSI restent un champ d'investigation très peu exploré jusqu'alors.

De ce fait, il nous semblait intéressant d'étudier l'association entre les mutations *PIK3CA* sur biopsie tumorale initiale et en circulant au diagnostic de cancers du sein inflammatoires localement avancés, afin de ne pas méconnaître, sur une seule biopsie, des tumeurs mutées *PIK3CA* qui pourraient à l'avenir bénéficier d'un inhibiteur de PI3K.

Par ailleurs, nous nous sommes également intéressés à la valeur prédictive et pronostique des mutations *PIK3CA*, tout d'abord par l'analyse de l'association entre statut mutationnel au diagnostic et pCR, mais aussi par l'analyse de l'association entre statut mutationnel au diagnostic et nos données de survie au sein de la cohorte. Enfin, nous avons étudié la corrélation entre le taux d'ADNtc au diagnostic et les données de survie.

III. Matériel & Méthodes

1. Sélection des patientes

Nous avons rétrospectivement sélectionné des patientes avec un cancer du sein inflammatoire localement avancé (CSILA) ayant bénéficié d'une chimiothérapie néoadjuvante au sein du Centre Henri Becquerel (CHB), de 2008 à 2018. Dans notre étude, nous avons défini un cancer du sein comme inflammatoire si classé cliniquement comme un T4d avec la confirmation histologique d'un carcinome invasif, sans nécessairement de confirmation histopathologique d'embolies tumorales lymphatiques. Seules les patientes avec, d'une part du matériel tumoral de qualité suffisante disponible issu des biopsies diagnostiques, et d'autre part un échantillon plasmatique disponible au diagnostic de qualité également suffisante, étaient incluses dans l'analyse. Conformément à la loi n°2012-300 relative aux recherches impliquant la personne humaine, le consentement éclairé des patientes a été obtenu via l'envoi d'un formulaire d'information et de non-opposition, et l'étude a été autorisée par notre IRB local (CHB, N°1913B). Dans cette étude, la recherche mutationnelle *PIK3CA* sur les biopsies tumorales et les échantillons plasmatiques correspondants des patientes était réalisée via digital droplet PCR (ddPCR). Le statut mutationnel *PIK3CA* était aussi analysé au sein des reliquats tumoraux des mastectomies post-chimiothérapie néoadjuvante et au sein des échantillons plasmatiques correspondants lorsque disponibles, chez les patientes mutées au diagnostic. La dernière mise à jour des données cliniques et de survie fut établie le neuf Juillet 2020.

2. Critères de jugement

Dans cette étude, nous avons défini le critère de jugement principal comme l'association entre le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant au diagnostic des CSILA suivis au sein du CHB.

Les critères de jugement secondaires rassemblaient : la fréquence des mutations *PIK3CA* au sein des CSILA au diagnostic, surtout selon leur statut moléculaire ; l'association entre statut mutationnel au diagnostic et taux de pCR, la SSP et la SG ; l'association entre le taux d'ADN libre circulant (ADNlc) au diagnostic et le taux de pCR, la SSP et la SG et l'association entre la pCR et la survie. La réponse histologique était considérée comme

complète dans notre étude en cas d'absence de résidu tumoral invasif après mastectomie et lymphadénectomie (ypT0/is, N0), comme le définit le RCB calculator de MD Anderson, soit une réponse histologique considérée comme complète en cas de résidu tumoral in situ retrouvé uniquement. Nous avons défini comme réfractaires, les patientes sans réponse à la chimiothérapie néo-adjuvante, incluant alors les progressions et les stabilités tumorales.

3. Procédure analytique

3.1. Extraction d'ADN sur tissu tumoral

L'ADN issu des biopsies des tumeurs du sein fixées à la paraffine et au formol (FFPE) a été extrait via le kit de purification d'ADN Maxwell 16FFPE Plus LEV depuis deux échantillons de 2 µL.

3.2. Extraction de l'ADN total circulant sur échantillon plasmatique

Les échantillons plasmatiques provenaient des reliquats d'analyses sanguines dédiées au dosage du Ca15-3 effectuées pendant le traitement des patientes prises en charge pour un CSI. Les échantillons plasmatiques ont été collectés dans des tubes héparinisés, pour les analyses antérieures à 2017, ou EDTA pour les analyses postérieures à 2017, et traités dans les deux heures après le prélèvement avec une centrifugation à 2000g (10min) à 4°C avant le stockage à -20°C. L'ADNc a été isolé de 0,3 à 1ml de plasma hépariné ou de plasma EDTA avec le kit d'acide nucléique circulant QIamp (Qiagen, Hilden, Germany). La quantification de l'ADN double brin a été réalisée par une méthode fluorimétrique en utilisant un kit de test Qubit ds DNA HS (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). 4ng d'ADNc ont été préamplifiés 12 cycles pour le plasma hépariné et 9 cycles pour le plasma EDTA en utilisant respectivement 12,5 µL TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems) pour l'héparine et 12,5 µL Q5 Hot Start High Fidelity Master Mix (New England Biolabs) pour l'EDTA. L'ADNc du plasma hépariné a été traité avec une dilution de 2 µL de bactéricide d'héparinase I au préalable, afin d'améliorer la détection mutationnelle par ddPCR comme illustré sur la Figure 6 (New England Biolabs, USA) (99). Ces techniques de préamplification

ont déjà été décrites et utilisées par l'équipe de Recherche en Oncologie (IRON) lors de travaux antérieurs (100,101). La pCR de préamplification a été réalisée avec un dosage de 0,7 µL (EDTA) ou 0,25 µL (héparine) pour la ddPCR, H1047L pour H1047R et L, E542K pour E542K et 545K, et 25 µL d'eau.

3.3. Détection par digital droplet PCR

La détection des mutations *PIK3CA*, en circulant et sur matériel tumoral, a été réalisée par ddPCR, en aveugle des données cliniques, utilisant le système de la Stilla. Nous avons utilisé le test ddPCR de Biorad pour les quatre mutations, E542K (dHsaMDV2010073), E545K (dHsaMDV2010123), H1047R (dHsaMDV2010077), H1047L (dHsaMDV2010123). Pour la réaction simplex ddPCR, nous avons utilisé le Perfecta multiplex QPCR Toughmix 5 µL, avec 1,5 µL de dosage, 2,5 µL de fluorescéine, et 25 µL d'eau. Si l'échantillon était de l'ADN plasmatique, nous avons ajouté 2 µL de préamplification diluée à 0,1%. Si l'échantillon était de l'ADN FFPE, 1 µL a été ajouté au mélange.

3.4. Analyse

Les résultats ont été analysés à l'aide du logiciel CrystalMiner, apportant son expertise technique concernant les résultats positifs ou négatifs. Le bruit de fond, noté LOD pour « limit of detection » est défini par la concentration minimale de l'allèle mutant qui peut être détectée à partir d'un témoin négatif. Pour évaluer le bruit de fond de notre méthode, la charge de l'allèle a été mesurée à partir de plusieurs échantillons d'ADN libre circulant (ADNlc) préamplifiés et extraits de plasmas témoins provenant de patients indemnes de cancer du sein. Ces plasmas témoins ont été prélevés, analysés et stockés dans les mêmes conditions que nos tubes de patients utilisés dans l'étude. Les témoins positifs fournis pour deux mutations par la Stilla a permis de conforter la validité de nos seuils de positivité, et à fortiori de conforter la validité de nos résultats. La fraction de variant allélique (FVA) a été définie comme étant la proportion de copies d'ADN mutants par rapport à la somme des copies d'ADN mutants et d'ADN de type sauvage obtenus par ddPCR. Un exemple d'application de la Stilla pour la détection mutationnelle *PIK3CA* est illustré sur la Figure 7.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

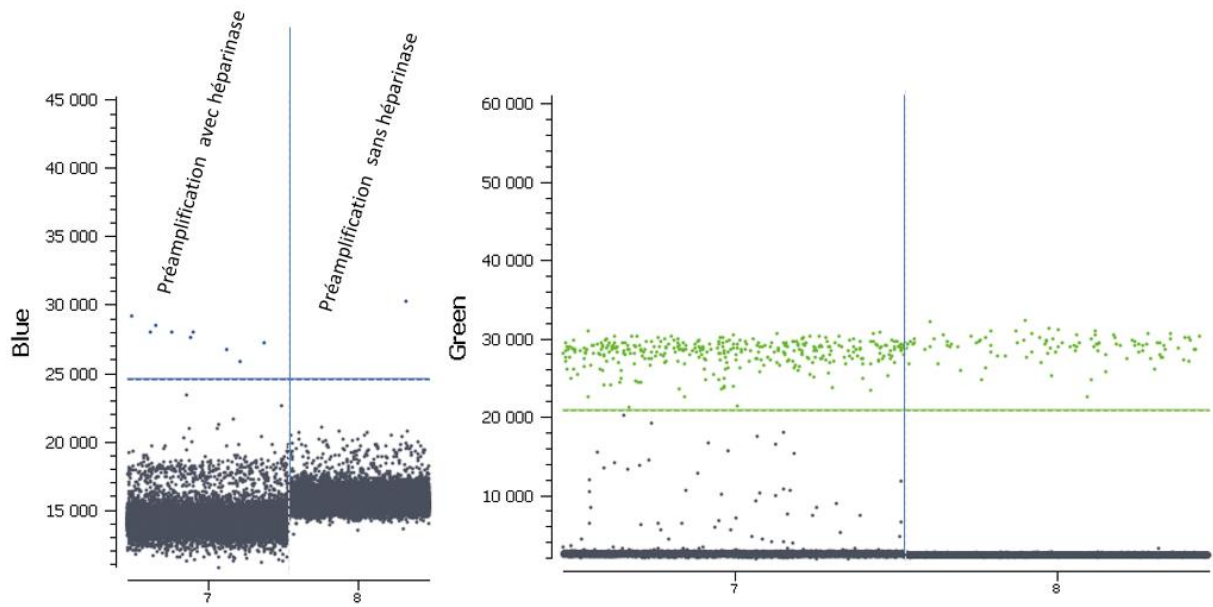


Figure 6 : Plasma testé avec et sans héparinase par digital droplet PCR.
Amélioration de la détection en digital PCR chez ce patient connu comme étant muté après application d'héparinase sur les plasmas héparinés.

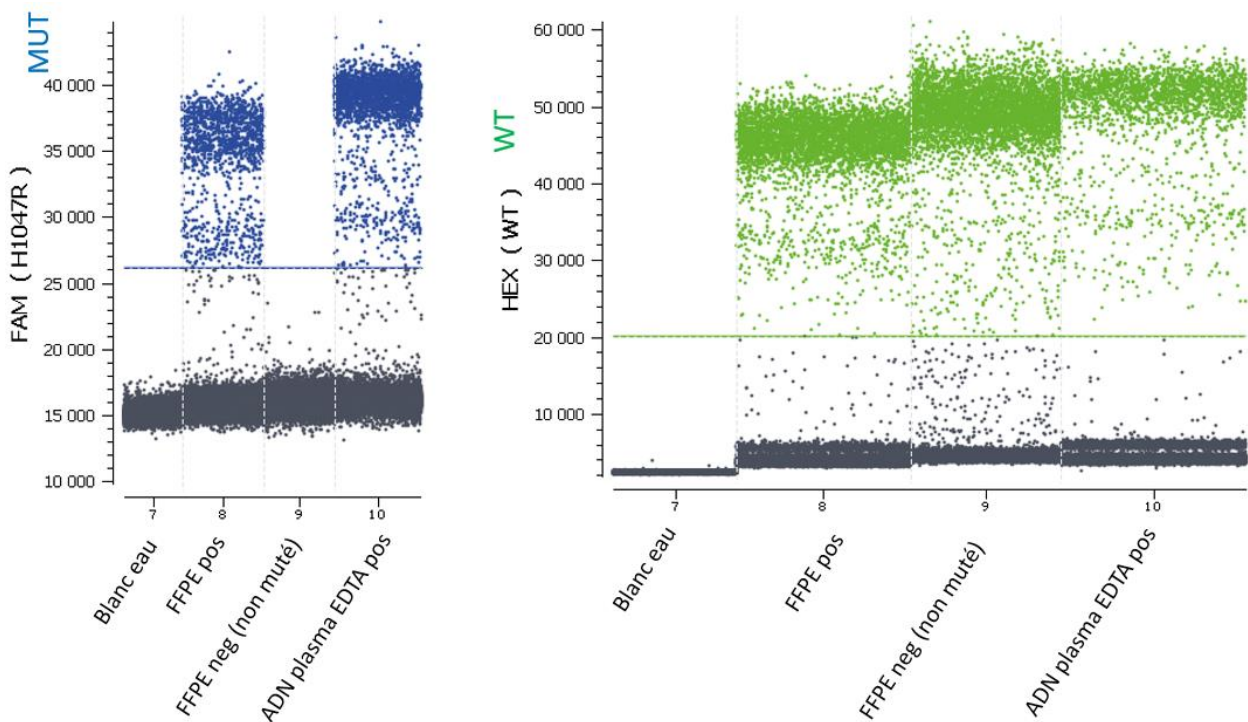


Figure 7 : Mise au point de la détection mutationnelle *PIK3CA* H1047R (biorad) sur la Stilla
Répartition des gouttes et seuils de détection mutationnelle, visualisation en 1D dot plot

3.5. Statistiques

Le critère de jugement principal de notre étude était l'association entre les mutations *PIK3CA* sur biopsie tumorale initiale et en circulant au diagnostic de cancers du sein inflammatoires localement avancés.

La comparaison des caractéristiques des patientes selon leur statut mutationnel a été réalisée à l'aide du test du chi-2. La méthode de Kaplan-Meier a été utilisée pour estimer les taux de survie sans progression (SSP) et de survie globale (SG). Le test du Log-rank a permis de comparer les courbes de survie en fonction des déterminants observés. Les valeurs de $p < 0.05$ étaient considérées comme significatives. Toutes les valeurs de p reportées étaient bilatérales, et l'intervalle de confiance était fixé à 95%.

IV. Résultats

1. Caractéristiques des patientes

Un total de 58 patientes prises en charge pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique répondait initialement aux critères d'inclusion pour cette étude. Après décongélation des blocs tumoraux provenant des biopsies initiales, le statut mutationnel *PIK3CA* n'a pu être évalué pour 3 patientes, compte-tenu d'une extraction d'une quantité trop faible d'ADN. Ainsi, 55 patientes étaient finalement incluables dans cette étude comme l'illustre le flow-chart de la Figure 8. Parmi elles, 43 patientes avaient assez d'ADN circulant issu des plasmas au diagnostic pour analyser le statut mutationnel circulant. Les principales caractéristiques de la totalité des patientes incluses sont résumées sur le tableau 4. L'âge médian de ces patientes était de 55 ans (De 33 à 87 ans), avec 43,6% de patientes pré-ménopausées, confirmant ainsi l'âge plus jeune au diagnostic caractérisant les cancers du sein inflammatoires. La majorité de nos patientes était obèse avec un IMC médian de 30,6, et avait un profil d'agressivité tumorale notable avec haut grade tumoral et atteinte ganglionnaire.

2. Statut mutationnel *PIK3CA* sur biopsie tumorale au diagnostic.

14 patientes sur 55 (25,5%) présentaient une mutation *PIK3CA* identifiée sur la biopsie initiale (H1047R=8 ; H1047L=3 ; E545K=2 ; E542K=1), et toutes les mutations retrouvées étaient simples, sans mutations polyclonales objectivées. Concernant leur répartition au sein des différents sous-types moléculaires, il était retrouvé une prévalence mutationnelle de 12,5% (2/16) pour les cancers HER2-positif, 26% (6/23) pour les cancers RH+/HER2-négatifs, et enfin 37,5% (6/16) pour les cancers triple-négatifs. Après application du test du chi-2, il n'y avait pas de différence significative des caractéristiques des patientes entre les groupes de patientes mutées et non mutées *PIK3CA* sur la biopsie initiale, comme illustré sur le tableau 4.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

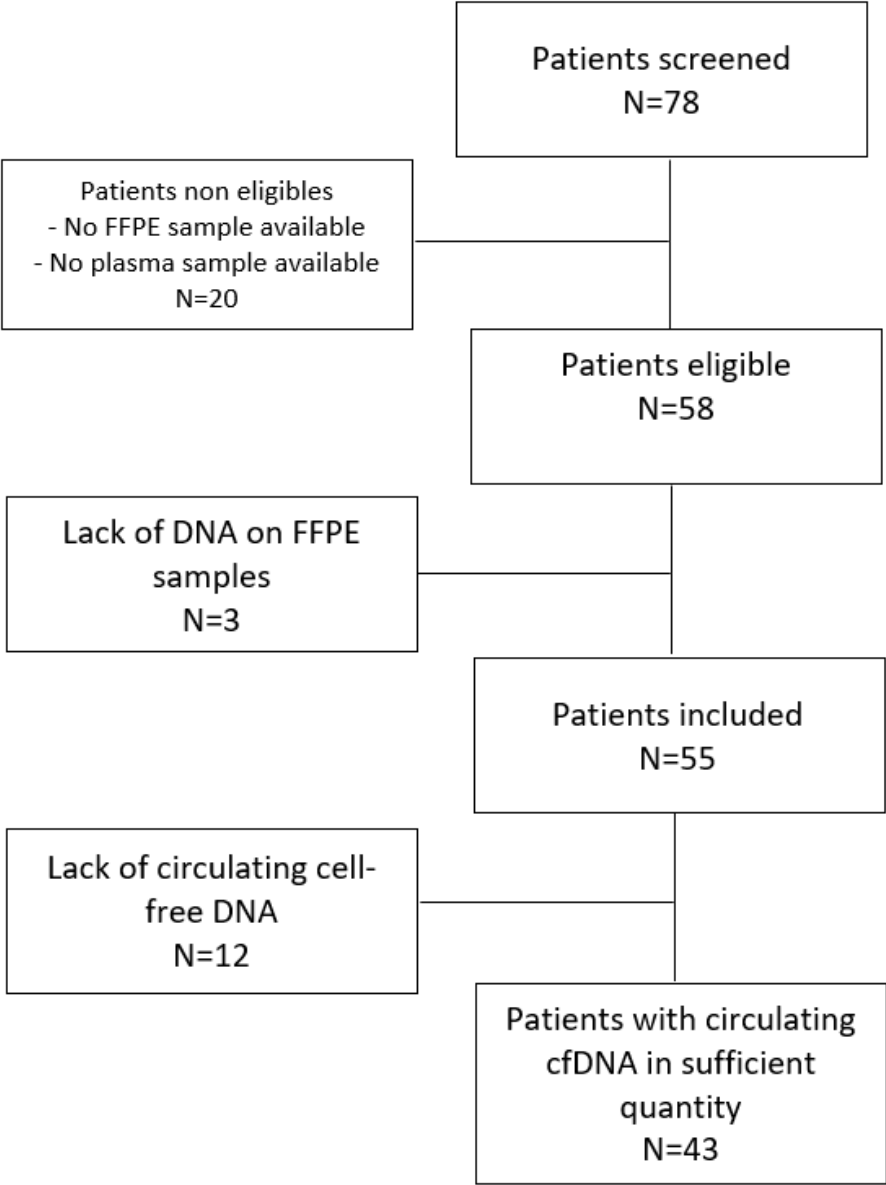


Figure 8 : Flow chart de l'étude

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

		TOTAL N=55	FFPE <i>PIK3CA</i> mutated patients N=14	FFPE <i>PIK3CA</i> non- mutated patients N=41	p
Median age at diagnosis Years [min-max]		54.8 [33-87]	55.9 [43-78]	54.11 [33-87]	0.27
Histological subtype CCI		55 (100%)	14 (100%)	41 (100%)	1
Lymph node status	Positive Negative	53 (96.4%) 2 (3.6%)	13 (92.9%) 1 (7.1%)	40 (97.6%) 1 (2.4%)	1
Molecular subtype	HER2+ and HR+/- HER2- and HR- HER2- and HR+	16 (29%) 16 (29%) 23 (42%)	2 (14%) 6 (43%) 6 (43%)	14 (34%) 10 (24%) 17 (42%)	0.26
Tumor grade	1-2 3 NA	20 (36.4%) 34 (61.8%) 1 (1.8%)	6 (42.9%) 7 (50%) 1 (7.1%)	14 (34.1%) 27 (65.9%) 0 (0%)	0.79
Median BMI at diagnosis kg/m² [min-max]		30.6 [19-44.2]	28.6 [22.7-37.5]	31.1 [19-44.2]	0.37
Menopausal status	Premenopausal Postmenopausal	24 (43.6%) 31 (56.4%)	5 (35.7%) 9 (64.3%)	19 (46.3%) 22 (53.7%)	0.7
Neoadjuvant chemotherapy		55 (100%)	14 (100%)	41 (100%)	1

Tableau 4 : Caractéristiques des patientes incluses

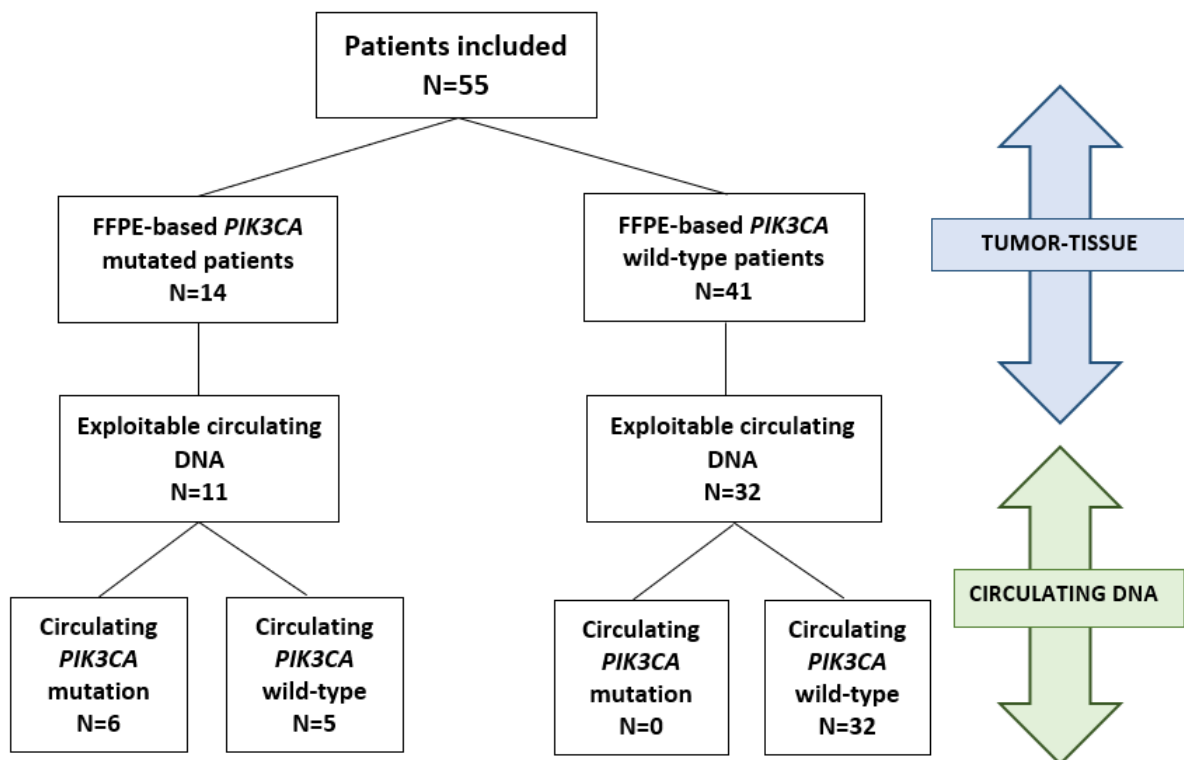
BMI = Body Mass Index = IMC

HR = Hormone Receptor = Récepteurs hormonaux

HER2+ = HER2-positif, définie comme une surexpression de 3+ par immunohistochimie ou 2+ avec amplification d'HER2 en fish (Hybridation In Situ en Fluorescence)

3. Statut mutationnel circulant *PIK3CA* au diagnostic

Parmi les 55 patientes incluses, 12 présentaient une quantité trop faible d'ADN libre circulant pour obtenir un statut mutationnel *PIK3CA* fiable. Dans le groupe des 14 patientes mutées *PIK3CA* sur biopsie initiale, 11 patientes avaient assez d'ADN plasmatisque (79%) pour permettre l'analyse, et des mutations circulantes correspondantes étaient retrouvées chez 6 patientes (55%), 3 patientes avec tumeur triple-négative, 2 RH+, et 1 seule HER2+. Toutes les mutations étaient uniques et correspondaient aux mêmes hotspots que sur tissu tumoral. Hormis ces 6 patientes, aucune autre mutation circulante n'était identifiée au sein des 43 patientes présentant un matériel tumoral et circulant au diagnostic de qualité, permettant une analyse mutationnelle interprétable. Tous ces résultats sont résumés dans la figure 9.



*Figure 9 : Distribution des mutations *PIK3CA* sur biopsie initiale et sur matériel circulant au diagnostic*

4. Statut mutationnel *PIK3CA* après traitement néoadjuvant chez les patientes mutées sur biopsie initiale

Parmi les 14 patientes mutées *PIK3CA* en somatique sur biopsie tumorale initiale, 3 (21,4%) étaient en réponse histologique complète (pCR) après chimiothérapie néoadjuvante, et 2 (14,3%) étaient considérées comme réfractaires. Parmi les 11 patientes mutées présentant un résidu tumoral au décours du traitement néo-adjuvant, 7 (64%) pièces opératoires étaient disponibles pour étudier le statut mutationnel *PIK3CA* par ddPCR. Nous avons retrouvé les mêmes mutations *PIK3CA* que celles analysées sur biopsie initiale pour 5 patientes soit 71%, avec un taux de variant de fraction allélique (VAF) toutefois moindre. De la même manière, nous avons 5 plasmas disponibles après chimiothérapie néoadjuvante parmi les 14 patientes mutées, soit 36%, avec uniquement une mutation circulante *PIK3CA* retrouvée (20%). Tous ces résultats sont résumés dans le tableau 5.

Patients	FFPE <i>PIK3CA</i> mutation at diagnosis (VAF %)		Circulating <i>PIK3CA</i> mutation at diagnosis (VAF%)		Outcomes post neoadjuvant chemotherapy	PIK3CA mutation on mastectomy post neoadjuvant chemotherapy (VAF%)		Circulating <i>PIK3CA</i> mutation post neoadjuvant chemotherapy (VAF%)		Relapse	DFS or follow-up (months)
N°1	H1047L	40.3%	H1047L	11%	Pathological Partial Response	NA		NA		Yes	30.2
N°2	E545K	47.80%	E545K	3.99%	Refractory	0		0		Yes	8.5
N°3	H1047R	6.55%	NC		Refractory	NA		0		Yes	5.7
N°4	E542K	23%	NC		pCR	NA		NA		No	83.9
N°5	H1047R	58.9%	H1047R	0.32%	Pathological Partial Response	NA		NA		No	37.6
N°6	E545K	16.31%	E545K	6.26%	Pathological Partial Response	E545K	0.23%	0		Yes	8.7
N°7	H1047R	25.3%	0		Pathological Partial Response	0		0		No	69
N°8	H1047L	39.6%	H1047L	11%	Pathological Partial Response	H1047L	27%	H1047L	0.98%	No	20.7
N°9	H1047R	40.7%	0		Pathological Partial Response	H1047R	14%	NA		No	60.4
N°10	H1047R	41.7%	H1047R	8.13%	Pathological Partial Response	H1047R	41%	NA		No	9
N°11	H1047R	3.31%	0		pCR	NA		NA		No	71.6
N°12	H1047R	25.2%	0		Pathological Partial Response	H1047R	18%	NA		No	61.9
N°13	H1047L	0.60%	0		Pathological Partial Response	NA		NA		No	97.2
N°14	H1047R	2.02%	NC		pCR	NA		NA		Yes	47.6

Tableau 5 : Mutations *PIK3CA*, réponse à la chimiothérapie néoadjuvante et survie sans progression des patientes mutées

NC = Non contributive

NA = Non available

pCR = Pathological Complete Response = Réponse histologique complète

Refractory = Réfractaire

Pathological Partial Response = Réponse histologique partielle

5. Réponse au traitement néoadjuvant selon le statut mutationnel *PIK3CA* et le taux d'ADNlc

Au total, 4 patientes étaient considérées comme réfractaires à la chimiothérapie néoadjuvante, et à fortiori, non éligibles à une chirurgie curative. 52 patientes ont bénéficié d'une chirurgie : 13 étaient en réponse histologique complète (pCR), 38 avaient une réponse histologique partielle, et 1 était réfractaire et a bénéficié d'une chirurgie « de propreté » au décours de la prise en charge néoadjuvante.

Parmi les 55 patientes incluses, une pCR a donc été observée chez 13 patientes (23,6%) après traitement néoadjuvant, sans différence significative objectivée selon le statut mutationnel *PIK3CA* FFPE ou circulant, avec $p=0,26$. Ainsi, il n'était pas retrouvé de valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante au statut mutationnel *PIK3CA*.

La médiane d'ADNlc au diagnostic était de 1,22ng/ μ L. Parmi les 27 patientes avec ADNlc au-dessus de la médiane, 6 avaient une pCR après traitement néoadjuvant (22,2%), résultats comparables aux patients avec ADNlc en dessous de la médiane avec 7 pCR pour 28 patientes (25%). Néanmoins, parmi les 4 patientes considérées comme réfractaires au traitement néoadjuvant, 3 avaient un ADNlc au-dessus de la médiane au diagnostic. Il n'existait donc pas de valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante en fonction du taux d'ADNlc au diagnostic, sans différence significative objectivée, avec $p=0,68$.

L'ensemble de ces résultats est illustré dans le tableau 6.

		Total N=55 (%)	Patients without <i>PIK3CA</i> mutation N=41 (%)	Patients with biopsy-based <i>PIK3CA</i> mutation but no corresponding circulating mutation N=8 (%)	Patients with biopsy-based and corresponding circulating <i>PIK3CA</i> mutation N=6 (%)	p	Patients with cfDNA $\leq 1.22\text{ng}/\mu\text{l}$ N=28	Patients with cfDNA $> 1.22\text{ng}/\mu\text{l}$ N=27	p
Outcomes post neoadjuvant treatment	Pathological Complete Response	13 (23.6%)	10 (24.4%)	3 (37.5%)	0 (0%)	0.26	7 (25%)	6 (22.2%)	0.68
	Refractory	4 (7.3%)	2 (4.9%)	1 (12.5%)	1 (16.7%)		1 (3.6%)	3 (11.1%)	
	Pathological Partial Response	38 (69%)	29 (70.7%)	4 (50%)	5 (83.3%)		20 (71.4%)	18 (66.7%)	

Tableau 6 : Réponse au traitement néoadjuvant selon le statut mutationnel *PIK3CA* et le taux d'ADNlc.

6. Analyse de la survie globale

La médiane de survie globale n'a pas été atteinte au sein de notre cohorte rétrospective, avec 20 décès recensés parmi nos 55 patientes incluses.

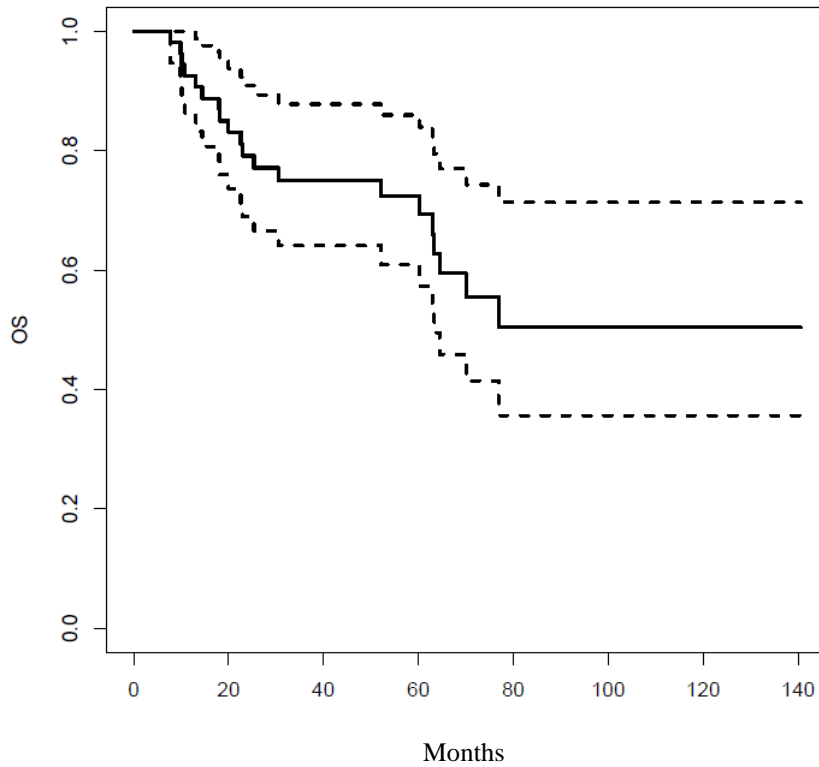


Figure 10 : Survie globale de la cohorte

6.1. Survie globale selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral au diagnostic

Aucune différence significative sur la survie globale n'a été mise en évidence entre les patientes mutées et non mutées *PIK3CA* sur tissu tumoral au diagnostic, avec HR=0.95 IC[0,35-2,63], p=0,926.

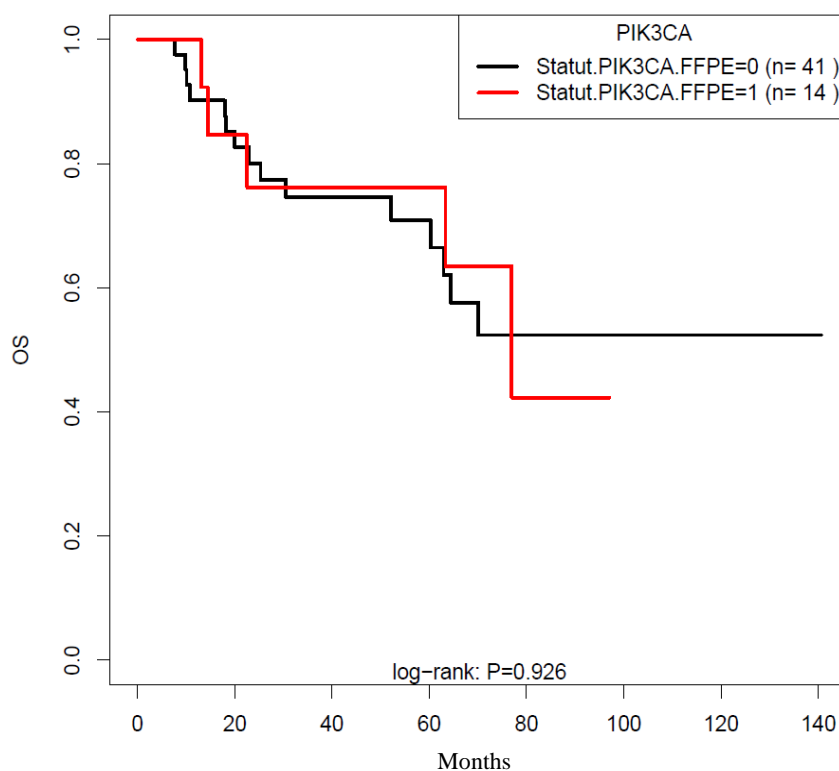


Figure 11 : Survie globale selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral au diagnostic

6.2. Survie globale selon le statut mutationnel *PIK3CA* circulant au diagnostic

Aucune différence significative sur la survie globale n'a été mise en évidence entre les patientes mutées et non mutées *PIK3CA* en circulant au diagnostic, avec HR=2.27 IC[0,66-7,81], p=0,182.

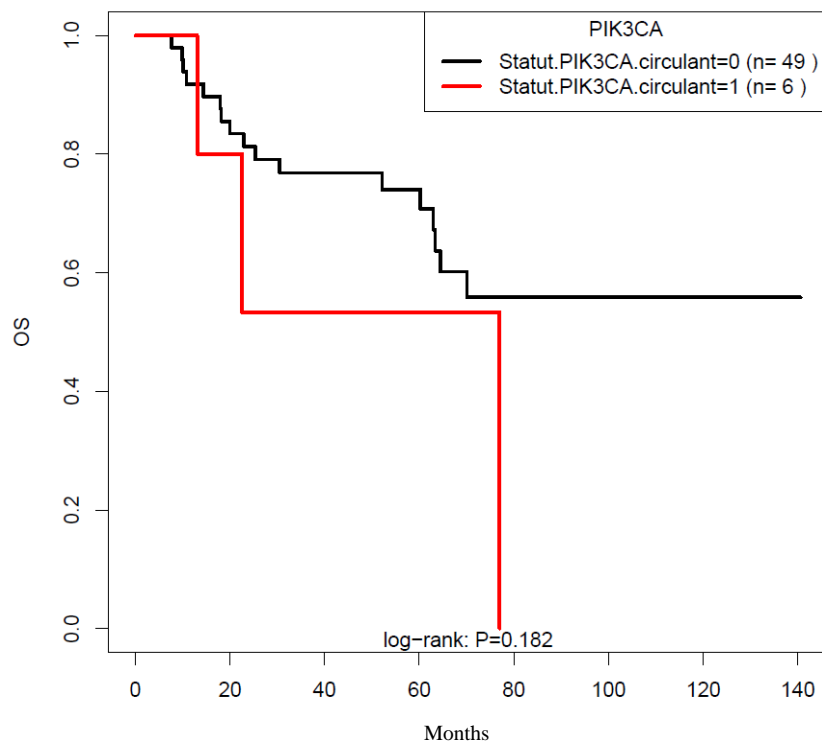


Figure 12 : Survie globale selon le statut mutationnel *PIK3CA* circulant au diagnostic

6.3. Survie globale selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant au diagnostic

Aucune différence significative sur la survie globale n'a été mise en évidence entre les patientes mutées et non mutées *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant, avec $p=0,291$.

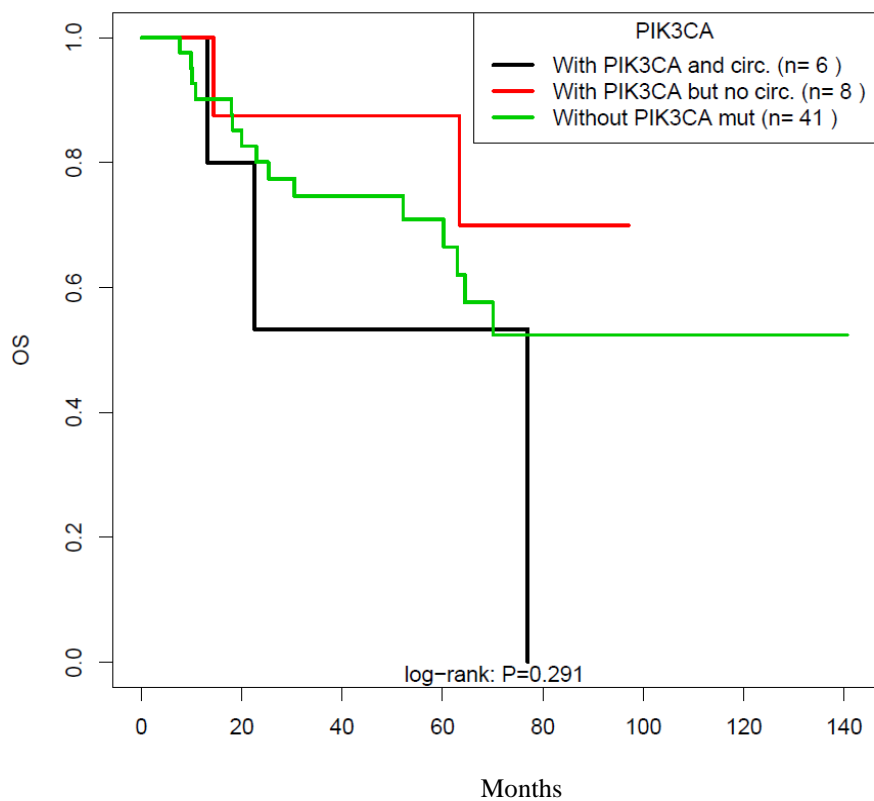


Figure 13 : Survie globale selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant au diagnostic

6.4. Survie globale selon le taux d'ADNlc au diagnostic

Contrairement à l'absence de valeur pronostique de la mutation *PIK3CA* au diagnostic des cancers du sein inflammatoires localement avancés objectivée dans notre étude, nous avons mis en évidence la valeur pronostique du taux d'ADNlc au diagnostic. En effet, une différence significative sur la survie globale a été soulignée entre les patientes présentant un taux d'ADNlc supérieur à la médiane de 1,22 ng/ μ L et celles présentant un taux inférieur au diagnostic, avec HR=0,36 IC[0,14-0,93], p=0,0277.

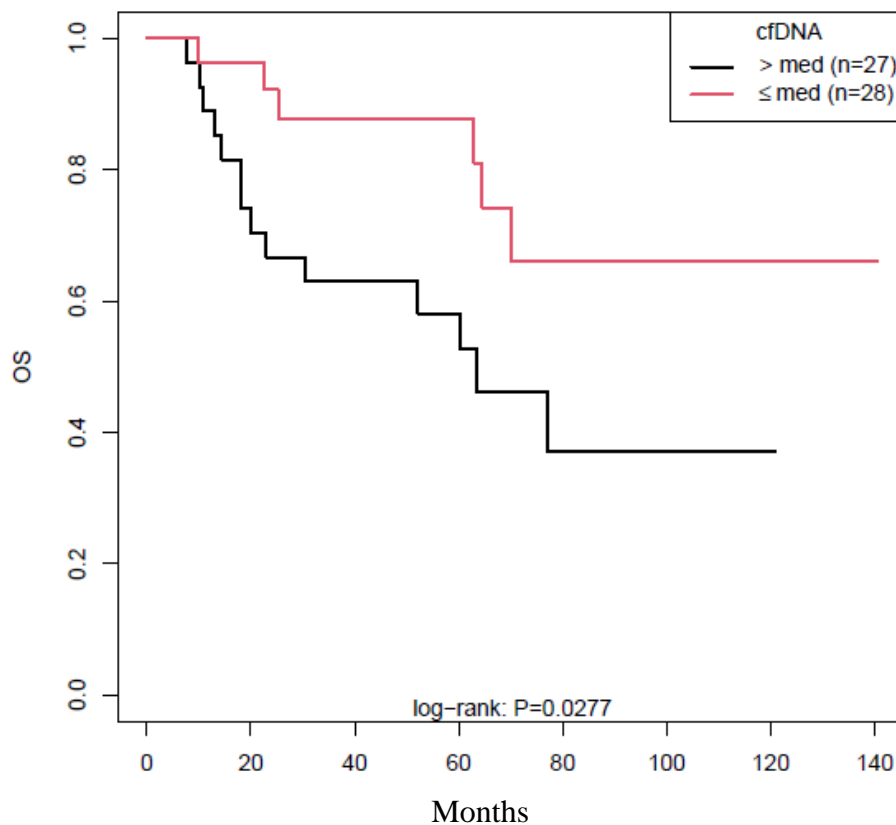


Figure 14 : Survie globale selon le taux d'ADNlc au diagnostic

6.5. Survie globale selon la réponse histologique complète

De la même manière, confirmant ainsi la valeur pronostique avérée de la réponse histologique complète, nous avons mis en évidence une différence significative sur la survie globale entre les patientes présentant une pCR après traitement néo-adjuvant et celles avec réponse partielle ou réfractaire sur pièce opératoire, avec $HR=0,25$ $IC[0,06-1,08]$, $p=0,0438$.

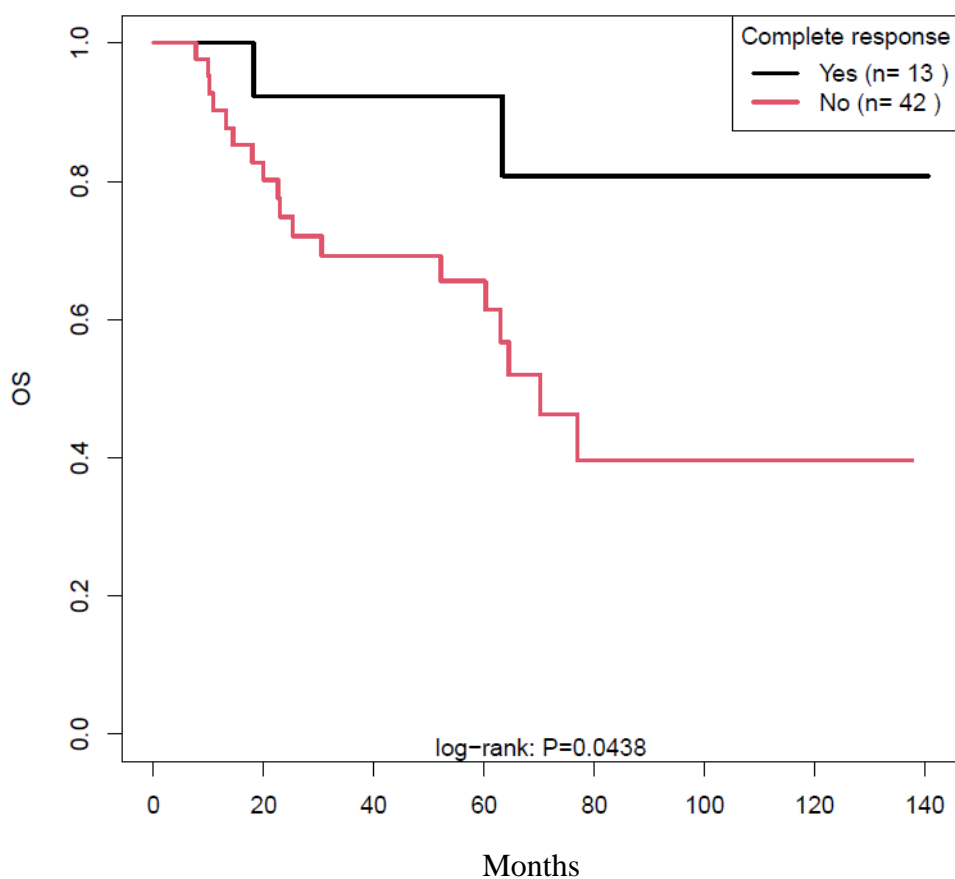


Figure 15 : Survie globale selon la réponse histologique complète

7. Analyse de la survie sans progression

La médiane de survie sans progression était de 104,8 mois soit 8,7 ans, avec 22 rechutes recensées au sein de notre cohorte, lors de la dernière mise à jour des données cliniques.

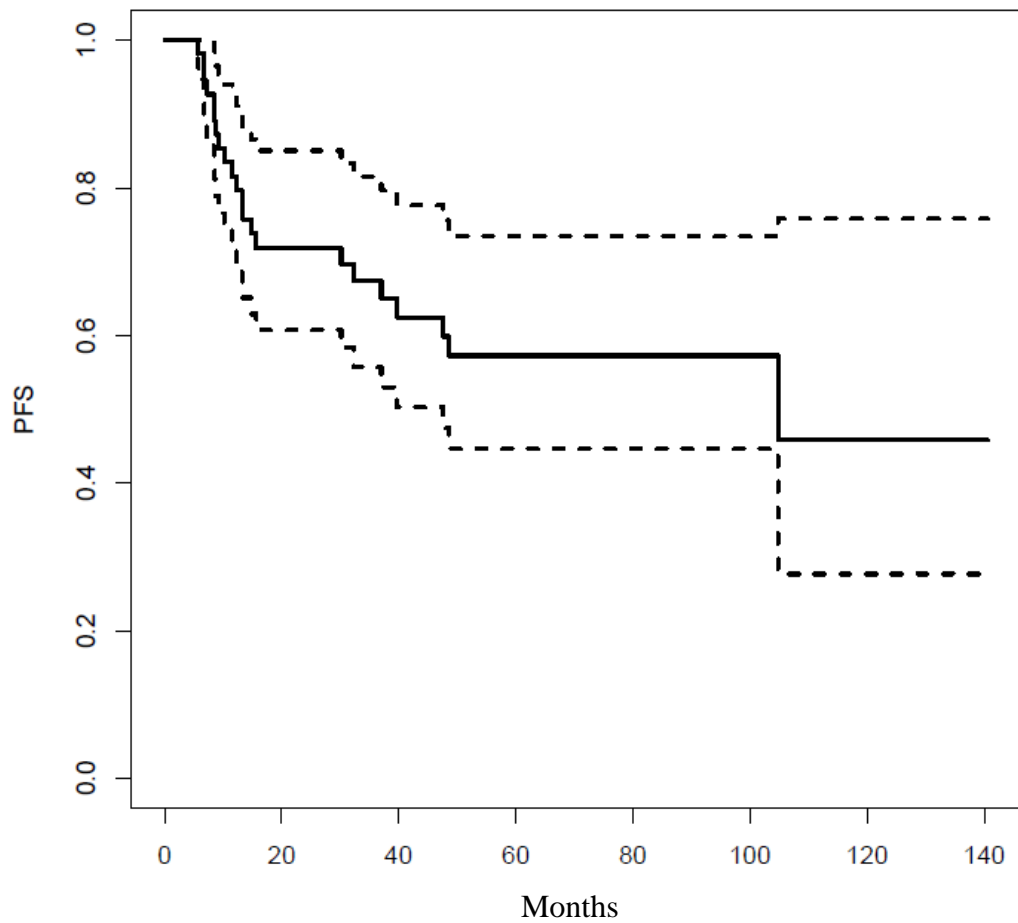


Figure 16 : Survie sans progression de la cohorte

7.1. Survie sans progression selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral au diagnostic

Aucune différence significative sur la survie sans progression n'a été mise en évidence entre les patientes mutées et non mutées *PIK3CA* sur tissu tumoral au diagnostic, avec HR=0,92 IC[0,34-2,52], p=0,876.

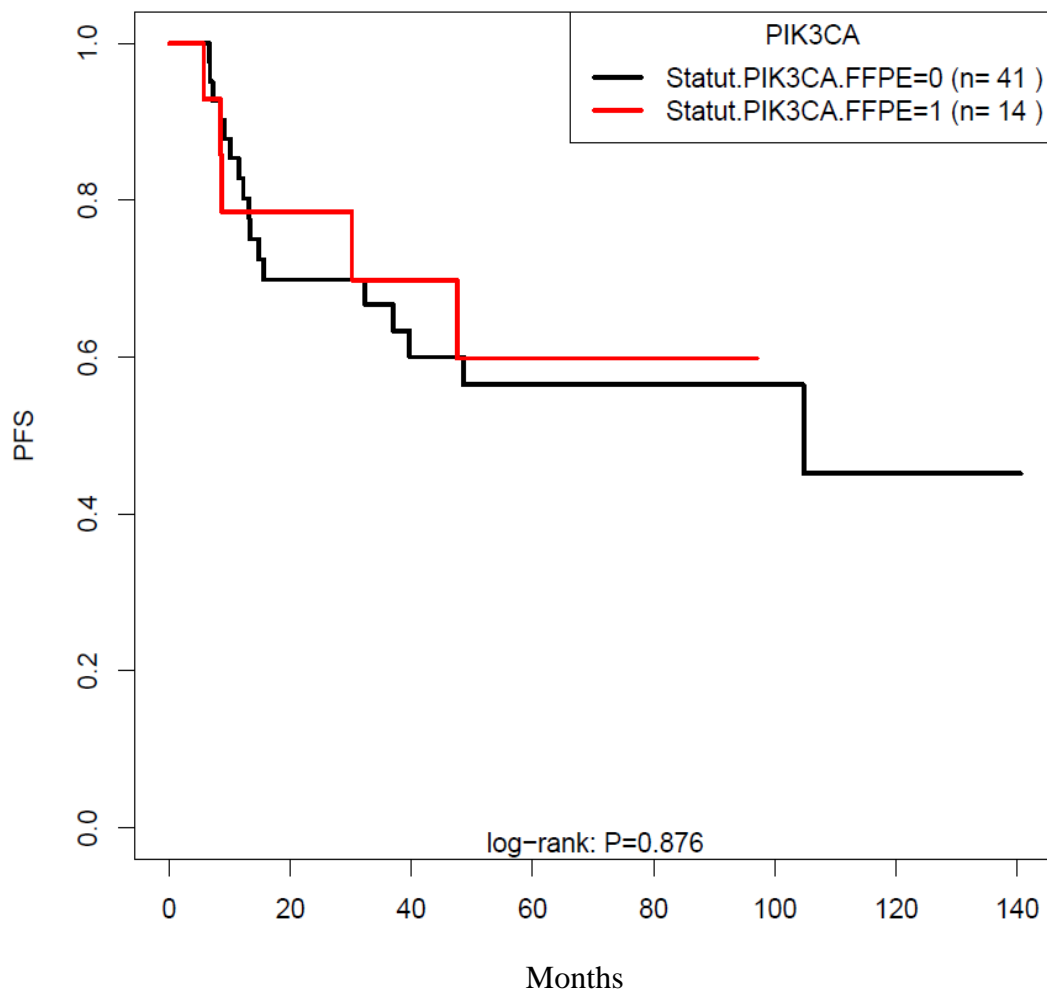


Figure 17 : Survie sans progression selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral au diagnostic

7.2. Survie sans progression selon le statut mutationnel *PIK3CA* circulant

Aucune différence significative sur la survie sans progression n'a été mise en évidence entre les patientes mutées et non mutées *PIK3CA* en circulant au diagnostic, avec HR=2.24 IC[0,64-7,81], p=0,195.

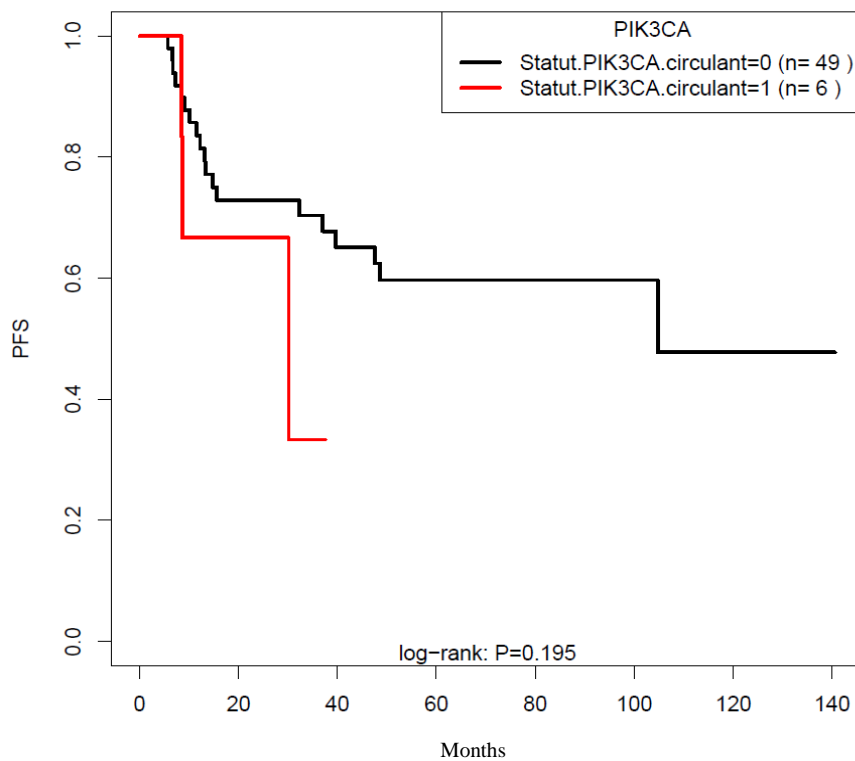


Figure 18 : Survie sans progression selon le statut mutationnel *PIK3CA* circulant

7.3. Survie sans progression selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant

Aucune différence significative sur la survie sans progression n'a été mise en évidence entre les patientes mutées et non mutées *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant, avec $p=0,29$.

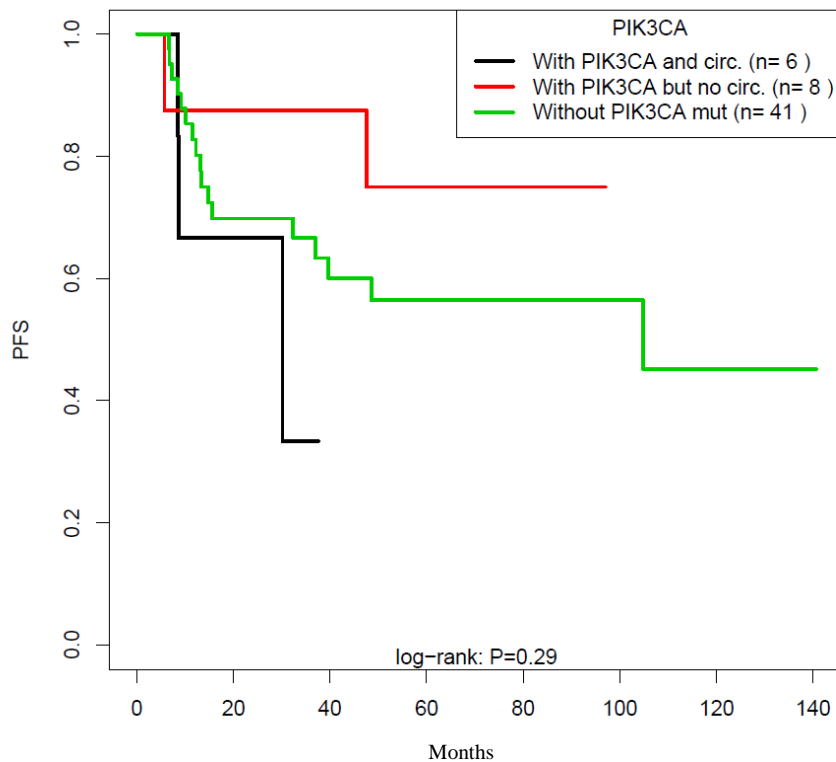


Figure 19 : Survie sans progression selon le statut mutationnel *PIK3CA* sur tissu tumoral et en circulant

7.4. Survie sans progression selon le taux d'ADNlc

Aucune différence significative sur la survie sans progression n'a été mise en évidence entre les patientes dont le taux d'ADNlc au diagnostic était supérieur à la médiane (1.22ng/μL) et les patientes avec un taux inférieur à la médiane, avec HR=0,45 IC[0,19-1,07], p=0,0634. Néanmoins, il est observé un seuil proche de la significativité, traduisant très probablement un manque de puissance pour attester de cette différence significative en terme de SSP selon le taux d'ADNlc au diagnostic.

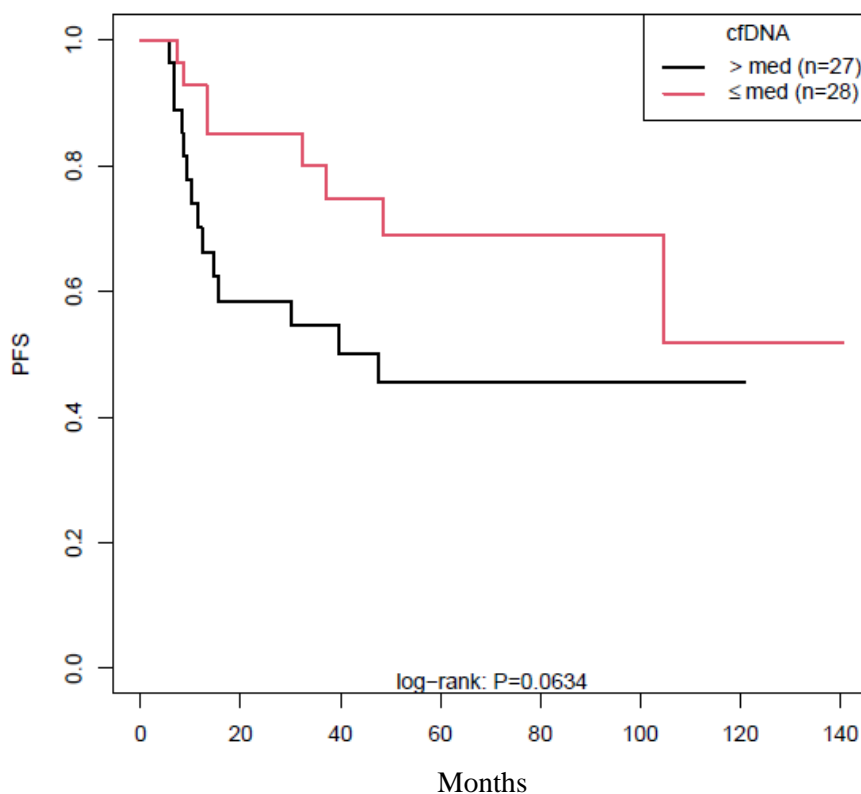


Figure 20 : Survie sans progression selon le taux d'ADNlc

7.5. Survie sans progression selon la réponse histologique complète

Parmi les 13 patientes avec obtention d'une réponse histologique complète après traitement néo-adjuvant, 2 patientes seulement (15%) ont malheureusement présenté une rechute tumorale contre 20 rechutes tumorales parmi les 42 patientes avec réponse histologique partielle ou réfractaire (47,6%). Notre étude a en effet mis en évidence une différence significative sur la survie sans progression selon l'obtention d'une pCR post traitement néo-adjuvant, avec HR=0,23 [0,05-1], p=0,0318.

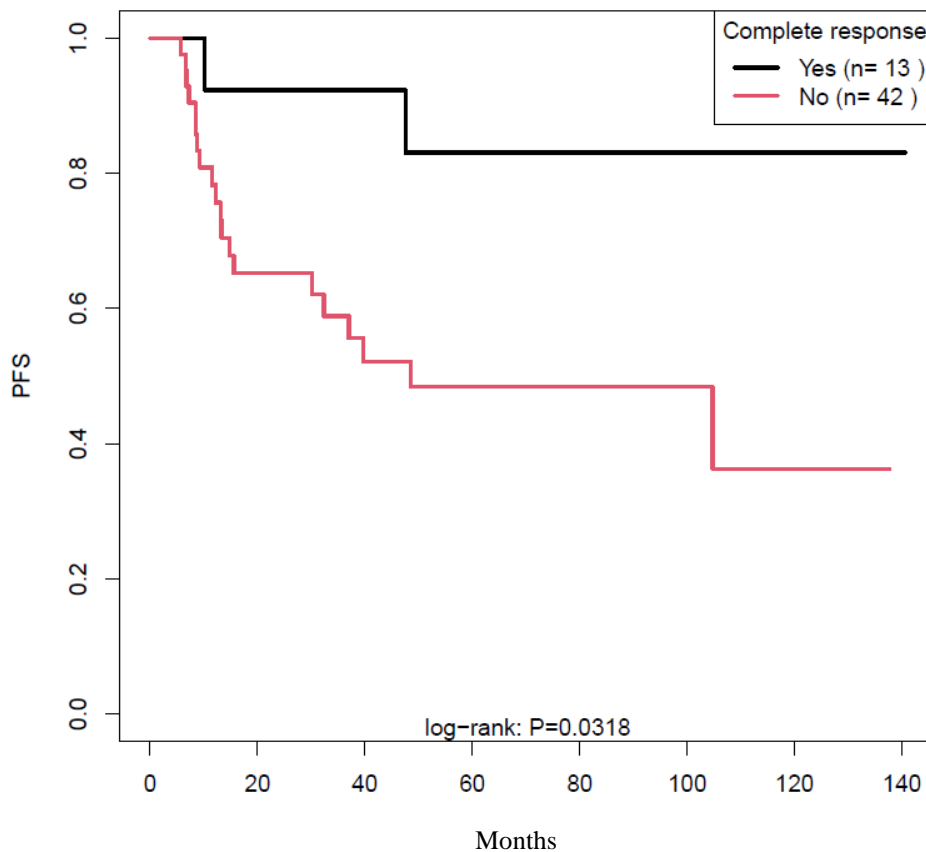


Figure 21 : Survie sans progression selon la réponse histologique complète

V. Discussion

Compte-tenu de leur faible incidence, et de leur définition purement clinique, le cancer du sein inflammatoire demeure une entité trop peu explorée, avec de rares données scientifiques. A notre connaissance, cette étude est la deuxième s'intéressant à l'ADNtc au sein des cancers du sein inflammatoires. En effet, dans la très récente étude de Winn et al publiée en Janvier 2020, le matériel circulant et tumoral de 19 patientes était étudié, avec une analyse de l'association entre les variants génétiques retrouvés en NGS sur le tissu tumoral et sur le matériel plasmatique correspondant. Néanmoins, une seule tumeur mutée *PIK3CA* fut retrouvée sur tissu tumoral, sans mutation circulante correspondante (102). Ainsi, ce travail n'a permis de formuler aucune conclusion concernant les mutations circulantes *PIK3CA* au sein des CSI. De plus, les cancers du sein inflammatoires sont exclus de la plupart des études, notamment SOLAR-1 (82), expliquant le manque de données notable dans le paysage mutationnel *PIK3CA*.

A l'heure de l'avènement des inhibiteurs de PI3K en routine clinique, et de l'essor de l'ADNtc compte-tenu de sa praticité, il nous a donc semblé justifié d'étudier plus spécifiquement l'association entre les mutations *PIK3CA* circulantes et sur tissu tumoral au sein des CSI.

Nos résultats ont permis de mettre en évidence des mutations circulantes *PIK3CA* correspondantes chez 55% des patientes prises en charge pour un CSILA muté *PIK3CA* sur la biopsie initiale, alors qu'aucune mutation circulante n'a été retrouvée au sein des patientes non mutées sur tissu tumoral. Malgré l'agressivité bien établie du CSILA, ce relargage tumoral circulant de 55% semble correspondre davantage à celui des cancers du sein localisés non inflammatoires avoisinant les 50% (38). En effet, au stade métastatique des taux de relargage circulant nettement supérieurs ont été soulignés, notamment dans l'étude de Kodahl et al avec 83% des patients mutés *PIK3CA* sur tissu tumoral présentant également des mutations circulantes correspondantes (67).

Toutes les mutations retrouvées dans notre étude étaient sur des hotspots uniques bien qu'ont été décrites des mutations *PIK3CA* polyclonales dans 12 à 15% des cancers du sein mutés *PIK3CA* (103,104). Néanmoins, cette absence de mutations polyclonales s'explique tout à fait au vu de notre faible effectif de 14 patientes mutées. Dans la récente étude de Vasan et al, 95% de ces multiples mutations *PIK3CA* étaient doubles, stimulant encore

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

davantage la voie d'activation oncogénique, et prédisant une sensibilité accrue aux inhibiteurs de PI3K en comparaison aux mutations uniques (63). Comme attendu, une majorité de mutations *PIK3CA* était localisée sur le hotspot H1047R au sein de l'exon 20 (105,106).

Bien que notre étude se basait sur un nombre limité de patientes, notre cohorte semble représentative des CSI avec de nombreux résultats corroborant ceux de la littérature. En effet, comme attendu, la majorité des patientes incluses était obèse, avec un profil d'agressivité tumorale notable et une distribution objectivant plus de sous-types triples négatifs et HER2 enrichis qu'au sein des cancers non inflammatoires (107,108). Par ailleurs, notre étude a souligné un taux de mutation *PIK3CA* sur biopsie initiale de 25,5%, proche des taux mutationnels reportés dans de récentes études portant sur la génomique des cancers du sein inflammatoires (109,110), et comparables également avec les taux mutationnels décrits parmi les cancers du sein non inflammatoires localisés (72,111). De plus, nous avons retrouvé un taux de pCR après chimiothérapie néoadjuvante de 23,6%, très proche du taux de pCR de 23,2% observé dans l'étude de Van Uden et al portant sur une cohorte de 1061 patientes prises en charge pour un CSI non métastatique (112).

Cette étude a par ailleurs souligné la valeur pronostique de la pCR après traitement néo-adjuvant dans les cancers du sein inflammatoires localement avancés, avec une différence significative aussi bien en terme de survie sans progression, qu'en terme de survie globale, confirmant ainsi les données de la littérature (93).

A la lumière de ces résultats, le statut mutationnel *PIK3CA*, circulant ou sur tissu tumoral, ne semble pas avoir de valeur pronostique ou prédictive de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante au sein des cancers du sein inflammatoires non métastatiques, mais aucune conclusion formelle ne peut-être formulée compte-tenu du faible nombre de patientes mutées. Cependant, au vu des données controversées déjà évoquées concernant cette valeur pronostique de la mutation *PIK3CA* dans les cancers du sein non inflammatoires, le comportement mutationnel *PIK3CA* des CSILA semble donc plutôt coïncider avec celui des cancers non inflammatoires. De ce fait, malgré un pronostic tout à fait différent des cancers du sein localement avancés non inflammatoires, nous n'observons pas via cette étude de variation notable sur le plan du paysage mutationnel *PIK3CA* des CSILA en comparaison aux cancers du sein non inflammatoires localement avancés. Le CSI demeure une entité opaque, qui nécessiterait des essais cliniques de grande envergure, s'attachant à une analyse extensive génomique par NGS afin d'espérer mieux appréhender son mécanisme de fonctionnement et son agressivité, dans l'espoir de voir naître de nouvelles perspectives thérapeutiques

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

permettant alors une amélioration du pronostic. Par ailleurs, au-delà de la génomique, il pourrait exister des variations transcriptomiques ou épigénétiques spécifiques des CSI pouvant potentiellement expliquer leur caractéristiques cliniques propres, mais pour l'heure ce domaine reste exploratoire.

Compte-tenu de l'avènement récent de l'alpelisib, et de ses résultats favorables dans le cancer du sein métastatique RH+ en association avec l'hormonothérapie, il serait intéressant d'étudier l'impact de cette molécule au sein des CSILA RH+ arborant une mutation *PIK3CA* circulante, ou de manière plus sensible, une mutation *PIK3CA* sur tissu tumoral au vu de nos résultats. En effet, à l'instar de l'essai PELICAN actuellement en cours (113), s'attachant à étudier le bénéfice de l'ajout de pembrolizumab à la chimiothérapie néoadjuvante standard dans le CSILA HER2-négatif, une même approche avec l'ajout de l'alpelisib pourrait être proposée aux patientes présentant un CSILA RH+. Par ailleurs, il pourrait également être envisagé, à l'instar cette fois de l'essai PENELOPE-B déjà évoqué antérieurement, l'étude de l'alpelisib en association à l'hormonothérapie adjuvante en cas d'absence de réponse histologique complète suite à la thérapeutique néo-adjuvante au sein des CSILA RH+ avec mutation de *PIK3CA*. Enfin, il pourrait également être envisagé une étude du statut mutationnel circulant *PIK3CA* pour les patientes prises en charge pour CSILA RH+ ne présentant pas de réponse favorable clinique à la chimiothérapie néoadjuvante afin de leur proposer en cas de positivité mutationnelle, un relais thérapeutique vers de l'alpelisib en association à une hormonothérapie.

De manière intéressante, nos résultats ont souligné la valeur pronostique du taux d'ADNlc initial, démontrant une survie globale plus courte chez les patientes prises en charge pour un CSILA avec un taux d'ADNlc au diagnostic supérieur à la médiane, suggérant que le taux d'ADNlc initial pourrait ainsi refléter la masse tumorale au sein des CSILA. De même, comme attendu, il n'a pas été mis en évidence de valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie néoadjuvante selon ce taux d'ADNlc. Cette valeur pronostique de l'ADNlc initial a été objectivée dans de nombreuses études portant sur le cancer pulmonaire (114), le cancer rectal durant la chimiothérapie néo-adjuvante (115), et le cancer du sein (100) surtout au sein du sous-type triple-négatif ayant bénéficié de chimiothérapie néo-adjuvante (116).

Cette étude présente indubitablement certaines limites. Tout d'abord, les résultats doivent être interprétés avec précaution étant donné le faible nombre de patientes incluses. Néanmoins, le CSILA demeure une entité rare, et les caractéristiques de notre cohorte semblent bien représenter cette population à la lumière de nos résultats et de la littérature

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

descriptive des CSILA. D'autre part, nous avons ciblé uniquement les 4 mutations de *PIK3CA* les plus fréquentes, compte-tenu de l'utilisation de la ddPCR, pouvant ainsi méconnaître d'autres mutations plus rares. Ensuite, cette étude présente certaines limites inhérentes à son schéma rétrospectif, à savoir faible quantité de matériel, échantillons plasmatiques ou tumoraux parfois inutilisables compte-tenu d'un ADN dégradé principalement du fait des méthodes de conservation et à fortiori, de leur ancienneté, ainsi que des conditions pré-analytiques suboptimales.

De plus, compte-tenu d'un ADN parfois dégradé avec une quantité de matériel limité, et une majorité d'échantillons plasmatiques héparinés, nous ne pouvions procéder à une étude génomique par NGS, qui nous aurait alors permis de mieux appréhender l'hétérogénéité tumorale des CSI. Nous ne pouvions ainsi analyser les mutations *AKT* qui appartiennent à la même voie de signalisation et aboutissent au même modèle d'activation oncogénique, ou encore étudier les mutations *TP53*, qui sont les plus fréquentes au sein des CSI.

D'un point de vue pratique, cette étude s'est chronologiquement déroulée avant l'accès à l'alpelisib en ATU sur le CHB, et a permis d'appréhender initialement l'utilisation de la Stilla pour la détection mutationnelle *PIK3CA*, ayant permis au décours une analyse fiable et rapide en routine clinique.

VI. Perspectives et Conclusion

En conclusion, malgré son agressivité, le CSILA semble avoir un faible relargage tumoral circulant, s'apparentant alors davantage à un cancer du sein de stade localisé, plutôt que métastatique. La biopsie initiale des CSILA semble quant à elle refléter de manière satisfaisante le statut mutationnel *PIK3CA* puisqu'aucune mutation circulante n'a été retrouvée parmi les patientes non mutées sur biopsie initiale.

Des essais prospectifs de plus grande ampleur sont par ailleurs nécessaires, dans l'espoir de déceler une caractéristique moléculaire et génomique propre de cette entité, qui ouvrirait alors la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques fortement attendues en vue d'améliorer le pronostic des CSILA.

A l'heure de la médecine personnalisée précoce, d'autres essais, cette fois thérapeutiques, sont attendus au sein des CSILA RH+ mutés *PIK3CA* avec l'étude de l'alpelisib en néo-adjuvant ou en intensification thérapeutique en cas de résidu tumoral invasif post traitement néo-adjuvant.

Ces résultats tendent donc à encourager les futurs essais thérapeutiques basés sur le statut mutationnel *PIK3CA* au sein des CSILA, à une recherche mutationnelle sur tissu tumoral au diagnostic plutôt qu'en circulant pour une meilleure sensibilité. Néanmoins, à l'heure de la médecine personnalisée, l'ADN circulant conserve une place intéressante au sein de cette population compte-tenu de la valeur pronostique objectivée du taux d'ADNlc au diagnostic, permettant de participer à la stratification des patientes selon leur niveau de risque, et a fortiori, leur proposer la meilleure stratégie thérapeutique.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

ANNEXE : Poster présenté à l'ESMO 2020



Circulating *PIK3CA* mutation detection at diagnosis in non-metastatic inflammatory breast cancer patients

Allouchery V¹, Perdrix A^{2,4}, Calbrix C⁴, Berghian A⁴, Lequesne J¹, Fontanilles M^{1,2}, Leheurtier M¹, Etanceline P⁴, Vasseur N², Di Fiore F^{1,2,3}, Clatot F^{1,2}
¹ Department of Medical Oncology, Centre Henri Becquerel, Rouen, France. ² Normandie Univ, UNIROUEN, Inserm U1245, IRON group, Rouen University Hospital, Normandy Centre for Genomic and Personalized Medicine, Rouen, France. ³ Department of Gastroenterology, Rouen University Hospital, Rouen, France. ⁴ Department of Bio-Pathology, Centre Henri Becquerel, Rouen, France

Abstract 3420



Background

Inflammatory breast cancer (IBC) is a rare but very aggressive form of breast cancer, with very few data concerning its molecular profile. Recently, a targetable somatic *PIK3CA* mutation has been reported in 30% of IBC, representing one of the most frequently activated oncogenic stimulation pathway and allowing for treatment by PI3K α -specific inhibitors, such as alpelisib. Due to tumor heterogeneity, the analysis of a single tissue-biopsy may not accurately reflect the *PIK3CA* mutation status of IBC. The aim of the present study was to evaluate the correlation between *PIK3CA* mutation in tumor biopsies of locally-advanced IBC (LAIBC) at diagnosis with corresponding circulating tumor DNA from plasma samples.

Patients and methods

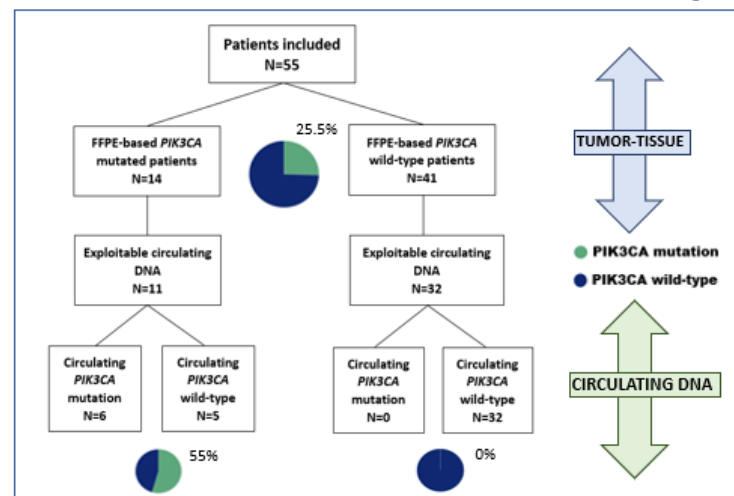
This retrospective study included all LAIBC who were treated by neoadjuvant chemotherapy and with available stored plasmas and biopsies at diagnosis. *PIK3CA* circulating mutations (H1047R/L, E542K, E545K) were detected by droplet digital PCR in plasma samples and tumor-tissue at diagnosis.

Results

A total of 55 patients were included, main characteristics are summarized in Table 1. *PIK3CA* mutations were detected on baseline biopsy in 14 patients (25.5%). All mutations were single. Among them, 11 (79%) patients had enough circulating DNA for circulating mutations analyses. Corresponding circulating *PIK3CA* mutations were found in 6/11 patients (55%). Beside these 6 patients, no other circulating mutation was identified among the 43 patients with fully interpretable circulating and biopsy mutational analyses. All these results are summarized in figure 1.

Table 1

Characteristics	TOTAL N=55	FFPE <i>PIK3CA</i> mutated patients N=14	FFPE <i>PIK3CA</i> non-mutated patients N=41
Median age at diagnosis Years [min-max]	54.8 [33-87]	55.9 [43-78]	54.11 [33-87]
Histological subtype	CCI 55 (100%)	CCI 14 (100%)	CCI 41 (100%)
Lymph node status	Positive 53 (96.4%) Negative 2 (3.6%)	Positive 13 (92.9%) Negative 1 (7.1%)	Positive 40 (97.6%) Negative 1 (2.4%)
HER2+ and HR+/-	16 (29%)	2 (14%)	14 (34%)
HER2- and HR-	16 (29%)	6 (43%)	10 (24%)
HER2- and HR+	23 (42%)	6 (43%)	17 (42%)
Tumor grade	1-2 20 (36.4%) 3 34 (61.8%) Unknown 1 (1.8%)	1-2 6 (42.9%) 3 7 (50%) Unknown 1 (7.1%)	1-2 14 (34.1%) 3 27 (65.9%) Unknown 0 (0%)
Median BMI at diagnosis kg/m ² [min-max]	30.6 [19-44.2]	28.6 [22.7-37.5]	31.1 [19-44.2]
Menopausal status	Premenopausal 24 (43.6%) Postmenopausal 31 (56.4%)	Premenopausal 5 (35.7%) Postmenopausal 9 (64.3%)	Premenopausal 19 (46.3%) Postmenopausal 22 (53.7%)
Neoadjuvant chemotherapy	Yes 55 (100%)	Yes 14 (100%)	Yes 41 (100%)



Conclusion

Corresponding circulating *PIK3CA* mutation was identified in 55% of non-metastatic IBC patients mutated on tumor-tissue. No circulating mutation was found among non-mutated *PIK3CA* patients. *PIK3CA* mutation status in LAIBC should rather be analyzed on tumor-tissue for futures interventional studies.

The first author declares no conflict of interest

violette.allouchery@gmail.com

Study sponsored by La Ligue contre le Cancer and by Henri Becquerel Center.

florian.clatot@chb.unicancer.fr

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2017 / 2018 / Maladies chroniques et traumatismes / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil [Internet]. [cité 4 mai 2019]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-chroniques-et-traumatismes/2018/Projection-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-France-metropolitaine-en-2017> [Internet]. [cité 24 mars 2020]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/projection-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-en-2017>
2. Veronesi U, Boyle P, Goldhirsch A, Orecchia R, Viale G. Breast cancer. *The Lancet*. 14 mai 2005;365(9472):1727-41.
3. Elston CW, Ellis IO. 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. C. W. Elston & I. O. Ellis. *Histopathology* 1991; 19; 403-410. *Histopathology*. sept 2002;41(3A):151-2, discussion 152-153.
4. Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn H-J, et al. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. oct 2005;16(10):1569-83.
5. Schoppmann SF, Bayer G, Aumayr K, Taucher S, Geleff S, Rudas M, et al. Prognostic value of lymphangiogenesis and lymphovascular invasion in invasive breast cancer. *Ann Surg*. août 2004;240(2):306-12.
6. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J, et al. 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. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. août 2011;22(8):1736-47.
7. Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R. Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-06. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. juill 1988;6(7):1076-87.
8. McGuire WL, Clark GM. Prognostic factors for recurrence and survival in axillary node-negative breast cancer. *J Steroid Biochem*. 1989;34(1-6):145-8.
9. Henderson IC, Canellos GP. Cancer of the breast: the past decade (first of two parts). *N Engl J Med*. 3 janv 1980;302(1):17-30.
10. Henderson IC, Canellos GP. Cancer of the breast: the past decade (second of two parts). *N Engl J Med*. 10 janv 1980;302(2):78-90.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

11. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 août 2007;13(15 Pt 1):4429-34.
12. Gobbi E, Ezzalfani M, Dieras V, Bachelot T, Brain E, Debled M, et al. Time trends of overall survival among metastatic breast cancer patients in the real-life ESME cohort. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* 2018;96:17-24.
13. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet Lond Engl.* 12 juill 2014;384(9938):164-72.
14. Rastogi P, Anderson SJ, Bear HD, Geyer CE, Kahlenberg MS, Robidoux A, et al. Preoperative Chemotherapy: Updates of National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocols B-18 and B-27. *J Clin Oncol.* 10 févr 2008;26(5):778-85.
15. Symmans WF, Wei C, Gould R, Yu X, Zhang Y, Liu M, et al. Long-Term Prognostic Risk After Neoadjuvant Chemotherapy Associated With Residual Cancer Burden and Breast Cancer Subtype. *J Clin Oncol.* 1 avr 2017;35(10):1049-60.
16. Masuda N, Lee S-J, Ohtani S, Im Y-H, Lee E-S, Yokota I, et al. Adjuvant Capecitabine for Breast Cancer after Preoperative Chemotherapy. *N Engl J Med.* 01 2017;376(22):2147-59.
17. von Minckwitz G, Huang C-S, Mano MS, Loibl S, Mamounas EP, Untch M, et al. Trastuzumab Emtansine for Residual Invasive HER2-Positive Breast Cancer. *N Engl J Med.* 14 2019;380(7):617-28.
18. A Study of Palbociclib in Addition to Standard Endocrine Treatment in Hormone Receptor Positive Her2 Normal Patients With Residual Disease After Neoadjuvant Chemotherapy and Surgery - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01864746>
19. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 8 juill 2003;100(14):8418-23.
20. Birnbaum D, Bertucci F, Ginestier C, Tagett R, Jacquemier J, Charafe-Jauffret E. Basal and luminal breast cancers: basic or luminous? (review). *Int J Oncol.* août 2004;25(2):249-58.
21. Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Monville F, Fekairi S, Jacquemier J, Birnbaum D, et al. How to best classify breast cancer: conventional and novel classifications (review). *Int J Oncol.* nov 2005;27(5):1307-13.
22. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res.* 15 sept 2015;5(10):2929-43.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

23. Sestak I, Buus R, Cuzick J, Dubsy P, Kronenwett R, Denkert C, et al. Comparison of the Performance of 6 Prognostic Signatures for Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer. *JAMA Oncol.* avr 2018;4(4):545-53.
24. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest.* 1 juill 2011;121(7):2750-67.
25. Mayer IA, Abramson VG, Lehmann BD, Pietenpol JA. New Strategies for Triple-Negative Breast Cancer—Deciphering the Heterogeneity. *Clin Cancer Res.* 15 févr 2014;20(4):782-90.
26. Abramson VG, Lehmann BD, Ballinger TJ, Pietenpol JA. Subtyping of triple-negative breast cancer: Implications for therapy. *Cancer.* 2015;121(1):8-16.
27. Bertucci F, Borie N, Ginestier C, Groulet A, Charafe-Jauffret E, Adélaïde J, et al. Identification and validation of an ERBB2 gene expression signature in breast cancers. *Oncogene.* 1 avr 2004;23(14):2564-75.
28. Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, Harvey BE, Mangu PB, Bartlett JMS, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update. *Arch Pathol Lab Med.* 2018;142(11):1364-82.
29. Konecny GE, Pegram MD, Venkatesan N, Finn R, Yang G, Rahmeh M, et al. Activity of the dual kinase inhibitor lapatinib (GW572016) against HER-2-overexpressing and trastuzumab-treated breast cancer cells. *Cancer Res.* 1 févr 2006;66(3):1630-9.
30. Kunte S, Abraham J, Montero AJ. Novel HER2–targeted therapies for HER2–positive metastatic breast cancer. *Cancer.* 2020;126(19):4278-88.
31. Robson M, Im S-A, Senkus E, Xu B, Domchek SM, Masuda N, et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *N Engl J Med.* 10 2017;377(6):523-33.
32. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* sept 2015;26 Suppl 5:v8-30.
33. OlympiAD: Phase III trial of olaparib monotherapy versus chemotherapy for patients (pts) with HER2-negative metastatic breast cancer (mBC) and a germline BRCA mutation (gBRCAm). | *Journal of Clinical Oncology* [Internet]. [cité 1 sept 2020]. Disponible sur: https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2017.35.18_suppl.LBA4
34. Tutt A, Stephens C, Frewer P, Pierce A, Rhee J, So K, et al. VIOLETTE: A randomized phase II study to assess DNA damage response inhibitors in combination with olaparib (Ola) vs Ola monotherapy in patients (pts) with metastatic, triple-negative breast cancer (TNBC) stratified by alterations in homologous recombination repair (HRR)-related genes. *J Clin Oncol.* 20 mai 2018;36(15_suppl):TPS1116-TPS1116.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

35. Mouridsen H, Gershanovich M, Sun Y, Perez-Carrion R, Boni C, Monnier A, et al. Phase III study of letrozole versus tamoxifen as first-line therapy of advanced breast cancer in postmenopausal women: analysis of survival and update of efficacy from the International Letrozole Breast Cancer Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 juin 2003;21(11):2101-9.
36. PALbociclib and Circulating Tumor DNA for ESR1 Mutation Detection - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 29 mai 2019]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03079011>
37. Diehl F, Li M, Dressman D, He Y, Shen D, Szabo S, et al. Detection and quantification of mutations in the plasma of patients with colorectal tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 8 nov 2005;102(45):16368-73.
38. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, Agrawal N, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 19 févr 2014;6(224):224ra24.
39. Didelot A, Le Corre D, Luscan A, Cazes A, Pallier K, Emile J-F, et al. Competitive allele specific TaqMan PCR for KRAS, BRAF and EGFR mutation detection in clinical formalin fixed paraffin embedded samples. *Exp Mol Pathol*. 1 juin 2012;92(3):275-80.
40. Taly V, Pekin D, Abed AE, Laurent-Puig P. Detecting biomarkers with microdroplet technology. *Trends Mol Med*. 1 juill 2012;18(7):405-16.
41. Phallen J, Sausen M, Adleff V, Leal A, Hruban C, White J, et al. Direct detection of early-stage cancers using circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*. 16 août 2017;9(403).
42. Butler TM, Spellman PT, Gray J. Circulating-tumor DNA as an early detection and diagnostic tool. *Curr Opin Genet Dev*. 1 févr 2017;42:14-21.
43. Mouliere F, Chandrananda D, Piskorz AM, Moore EK, Morris J, Ahlborn LB, et al. Enhanced detection of circulating tumor DNA by fragment size analysis. *Sci Transl Med*. 7 nov 2018;10(466):(466):eaat4921.
44. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223-38.
45. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 4 mars 2011;144(5):646-74.
46. Tokunaga E, Oki E, Egashira A, Sadanaga N, Morita M, Kakeji Y, et al. Deregulation of the Akt pathway in human cancer. *Curr Cancer Drug Targets*. févr 2008;8(1):27-36.
47. Dunlap J, Le C, Shukla A, Patterson J, Presnell A, Heinrich MC, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase and AKT1 mutations occur early in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. avr 2010;120(2):409-18.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

48. Karakas B, Bachman KE, Park BH. Mutation of the *PIK3CA* oncogene in human cancers. *Br J Cancer*. 27 févr 2006;94(4):455-9.
49. Dunlap J, Le C, Shukla A, Patterson J, Presnell A, Heinrich MC, et al. Phosphatidylinositol-3-kinase and *AKT1* mutations occur early in breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 1 avr 2010;120(2):409-18.
50. Pérez-Tenorio G, Alkhori L, Olsson B, Waltersson MA, Nordenskjöld B, Rutqvist LE, et al. *PIK3CA* mutations and *PTEN* loss correlate with similar prognostic factors and are not mutually exclusive in breast cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 juin 2007;13(12):3577-84.
51. Miller TW, Balko JM, Arteaga CL. Phosphatidylinositol 3-Kinase and Antiestrogen Resistance in Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 20 nov 2011;29(33):4452-61.
52. Razis E, Bobos M, Kotoula V, Eleftheraki AG, Kalofonos HP, Pavlakis K, et al. Evaluation of the association of *PIK3CA* mutations and *PTEN* loss with efficacy of trastuzumab therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. juill 2011;128(2):447-56.
53. Esteva FJ, Guo H, Zhang S, Santa-Maria C, Stone S, Lanchbury JS, et al. *PTEN*, *PIK3CA*, p-*AKT*, and p-p70S6K Status: Association with Trastuzumab Response and Survival in Patients with *HER2*-Positive Metastatic Breast Cancer. *Am J Pathol*. 1 oct 2010;177(4):1647-56.
54. Jiang P, Chan CWM, Chan KCA, Cheng SH, Wong J, Wong VW-S, et al. Lengthening and shortening of plasma DNA in hepatocellular carcinoma patients. *Proc Natl Acad Sci*. 17 mars 2015;112(11):E1317-25.
55. Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat Rev Genet*. août 2006;7(8):606-19.
56. Jiang B, Liu L. *PI3K/PTEN* Signaling in Angiogenesis and Tumorigenesis. In: *Advances in Cancer Research* [Internet]. Academic Press; 2009 [cité 24 mars 2020]. p. 19-65. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065230X09020028>
57. Zhao L, Vogt PK. Helical domain and kinase domain mutations in p110 α of phosphatidylinositol 3-kinase induce gain of function by different mechanisms. *Proc Natl Acad Sci*. 19 févr 2008;105(7):2652-7.
58. Bellacosa A, Kumar CC, Di Cristofano A, Testa JR. Activation of *AKT* kinases in cancer: implications for therapeutic targeting. *Adv Cancer Res*. 2005;94:29-86.
59. Miron A, Varadi M, Carrasco D, Li H, Luongo L, Kim HJ, et al. *PIK3CA* mutations in in situ and invasive breast carcinomas. *Cancer Res*. 15 juill 2010;70(14):5674-8.
60. O'Leary B, Cutts RJ, Liu Y, Hrebien S, Huang X, Fenwick K, et al. The Genetic Landscape and Clonal Evolution of Breast Cancer Resistance to Palbociclib plus Fulvestrant in the PALOMA-3 Trial. *Cancer Discov*. nov 2018;8(11):1390-403.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

61. Koboldt DC, Fulton RS, McLellan MD, Schmidt H, Kalicki-Veizer J, McMichael JF, et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. oct 2012;490(7418):61-70.
62. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 4 oct 2012;490(7418):61-70.
63. Vasan N, Razavi P, Johnson JL, Shao H, Shah H, Antoine A, et al. Double *PIK3CA* mutations in cis increase oncogenicity and sensitivity to *PI3K α* inhibitors. *Science*. 08 2019;366(6466):714-23.
64. Goncalves MD, Hopkins BD, Cantley LC. Phosphatidylinositol 3-Kinase, Growth Disorders, and Cancer. *N Engl J Med*. 22 nov 2018;379(21):2052-62.
65. Spoerke JM, O'Brien C, Huw L, Koeppen H, Fridlyand J, Brachmann RK, et al. Phosphoinositide 3-Kinase (*PI3K*) Pathway Alterations Are Associated with Histologic Subtypes and Are Predictive of Sensitivity to *PI3K* Inhibitors in Lung Cancer Preclinical Models. *Clin Cancer Res*. 15 déc 2012;18(24):6771-83.
66. Trigka EA, Levidou G, Saetta AA, Chatziandreou I, Tomos P, Thalassinos N, et al. A detailed immunohistochemical analysis of the *PI3K/AKT/mTOR* pathway in lung cancer: Correlation with *PIK3CA*, *AKT1*, *K-RAS* or *PTEN* mutational status and clinicopathological features. *Oncol Rep*. 1 août 2013;30(2):623-36.
67. Kodahl AR, Ehmsen S, Pallisgaard N, Jylling AMB, Jensen JD, Lænkholm A-V, et al. Correlation between circulating cell-free *PIK3CA* tumor DNA levels and treatment response in patients with *PIK3CA*-mutated metastatic breast cancer. *Mol Oncol*. 2018;12(6):925-35.
68. Buono G, Gerratana L, Bulfoni M, Provinciali N, Basile D, Giuliano M, et al. Circulating tumor DNA analysis in breast cancer: Is it ready for prime-time? *Cancer Treat Rev*. 1 févr 2019;73:73-83.
69. Baselga J, Im S-A, Iwata H, Cortés J, De Laurentiis M, Jiang Z, et al. Buparlisib plus fulvestrant versus placebo plus fulvestrant in postmenopausal, hormone receptor-positive, *HER2*-negative, advanced breast cancer (BELLE-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(7):904-16.
70. Mukohara T. *PI3K* mutations in breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Breast Cancer Targets Ther*. 15 mai 2015;7:111-23.
71. Aleskandarany MA, Rakha EA, Ahmed MAH, Powe DG, Paish EC, Macmillan RD, et al. *PIK3CA* expression in invasive breast cancer: a biomarker of poor prognosis. *Breast Cancer Res Treat*. 1 juill 2010;122(1):45-53.
72. Zardavas D, Te Marvelde L, Milne RL, Fumagalli D, Fountzilias G, Kotoula V, et al. Tumor *PIK3CA* Genotype and Prognosis in Early-Stage Breast Cancer: A Pooled Analysis of Individual Patient Data. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 01 2018;36(10):981-90.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

73. Fan H, Li C, Xiang Q, Xu L, Zhang Z, Liu Q, et al. PIK3CA mutations and their response to neoadjuvant treatment in early breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Thorac Cancer*. 2018;9(5):571-9.
74. Loibl S, Majewski I, Guarneri V, Nekljudova V, Holmes E, Bria E, et al. PIK3CA mutations are associated with reduced pathological complete response rates in primary HER2-positive breast cancer: pooled analysis of 967 patients from five prospective trials investigating lapatinib and trastuzumab. *Ann Oncol*. août 2016;27(8):1519-25.
75. Majewski IJ, Nuciforo P, Mittempergher L, Bosma AJ, Eidtmann H, Holmes E, et al. PIK3CA mutations are associated with decreased benefit to neoadjuvant human epidermal growth factor receptor 2-targeted therapies in breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 avr 2015;33(12):1334-9.
76. Moynahan ME, Chen D, He W, Sung P, Samoila A, You D, et al. Correlation between PIK3CA mutations in cell-free DNA and everolimus efficacy in HR + , HER2 – advanced breast cancer: results from BOLERO-2. *Br J Cancer*. mars 2017;116(6):726-30.
77. Saura C, Hlauschek D, Oliveira M, Zardavas D, Jallitsch-Halper A, de la Peña L, et al. Neoadjuvant letrozole plus taselisib versus letrozole plus placebo in postmenopausal women with oestrogen receptor-positive, HER2-negative, early-stage breast cancer (LORELEI): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 1 sept 2019;20(9):1226-38.
78. Schmid P, Pinder SE, Wheatley D, Macaskill J, Zammit C, Hu J, et al. Phase II Randomized Preoperative Window-of-Opportunity Study of the PI3K Inhibitor Pictilisib Plus Anastrozole Compared With Anastrozole Alone in Patients With Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 10 juin 2016;34(17):1987-94.
79. Mayer IA, Prat A, Egle D, Blau S, Fidalgo JAP, Gnant M, et al. A Phase II Randomized Study of Neoadjuvant Letrozole Plus Alpelisib for Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Breast Cancer (NEO-ORB). *Clin Cancer Res*. 15 mai 2019;25(10):2975-87.
80. Di Leo A, Johnston S, Lee KS, Ciruelos E, Lønning PE, Janni W, et al. Buparlisib plus fulvestrant in postmenopausal women with hormone-receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer progressing on or after mTOR inhibition (BELLE-3): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 1 janv 2018;19(1):87-100.
81. Krop IE, Mayer IA, Ganju V, Dickler M, Johnston S, Morales S, et al. Pictilisib for oestrogen receptor-positive, aromatase inhibitor-resistant, advanced or metastatic breast cancer (FERGI): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. juin 2016;17(6):811-21.
82. André F, Ciruelos E, Rubovszky G, Campone M, Loibl S, Rugo HS, et al. Alpelisib for PIK3CA-Mutated, Hormone Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. *N Engl J Med*. 16 mai 2019;380(20):1929-40.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

83. Baselga J, Cortes Castan J, De Laurentiis M, Dieras V, Harbeck N, Hsu J, et al. SANDPIPER: Phase III study of the PI3-kinase (PI3K) inhibitor taselisib (GDC-0032) plus fulvestrant in patients (pts) with oestrogen receptor (ER)-positive, HER2-negative locally advanced or metastatic breast cancer (BC) enriched for pts with PIK3CA-mutant tumours. *Ann Oncol* [Internet]. 1 oct 2016 [cité 17 févr 2020];27(suppl_6). Disponible sur: https://academic.oup.com/annonc/article/27/suppl_6/313TiP/2799052
84. Anderson WF, Chu KC, Chang S. Inflammatory Breast Carcinoma and Noninflammatory Locally Advanced Breast Carcinoma: Distinct Clinicopathologic Entities? *J Clin Oncol*. 15 juin 2003;21(12):2254-9.
85. Menta A, Fouad TM, Lucci A, Le-Petross H, Stauder MC, Woodward WA, et al. Inflammatory Breast Cancer. *Surg Clin North Am*. août 2018;98(4):787-800.
86. Dawood S, Ueno NT, Valero V, Woodward WA, Buchholz TA, Hortobagyi GN, et al. Differences in survival among women with stage III inflammatory and noninflammatory locally advanced breast cancer appear early. *Cancer*. 2011;117(9):1819-26.
87. Iuliis FD, Iuliis FD, D'Aniello D, Cefali K, Corvino R, Ferraro E, et al. Inflammatory breast cancer management: a single centre experience. *Ann Oncol*. 1 oct 2015;26:vi24.
88. Hance KW, Anderson WF, Devesa SS, Young HA, Levine PH. Trends in Inflammatory Breast Carcinoma Incidence and Survival: The Surveillance, Epidemiology, and End Results Program at the National Cancer Institute. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 6 juill 2005;97(13):966-75.
89. Anderson WF, Schairer C, Chen BE, Hance KW, Levine PH. Epidemiology of Inflammatory Breast Cancer (IBC)1. *Breast Dis*. 1 janv 2006;22(1):9-23.
90. Bell SC. *A System of Operative Surgery: Founded on the Basis of Anatomy*. Hale & Hosmer; 1812. 686 p.
91. Levine PH, Zolfaghari L, Young H, Hafi M, Cannon T, Ganesan C, et al. What Is Inflammatory Breast Cancer? Revisiting the Case Definition. *Cancers*. mars 2010;2(1):143-52.
92. Biswas T, Efird JT, Prasad S, James SE, Walker PR, Zagar TM. Inflammatory TNBC Breast Cancer: Demography and Clinical Outcome in a Large Cohort of Patients With TNBC. *Clin Breast Cancer*. 1 juin 2016;16(3):212-6.
93. van Uden DJP, van Laarhoven HWM, Westenberg AH, de Wilt JHW, Blanken-Peeters CFJM. Inflammatory breast cancer: an overview. *Crit Rev Oncol Hematol*. févr 2015;93(2):116-26.
94. Monneur A, Goncalves A, Gilabert M, Finetti P, Tarpin C, Zemmour C, et al. Similar response profile to neoadjuvant chemotherapy, but different survival, in inflammatory versus locally advanced breast cancers. *Oncotarget*. 31 juill 2017;8(39):66019-32.
95. Biswas T, Jindal C, Fitzgerald TL, Efird JT. Pathologic Complete Response (pCR) and Survival of Women with Inflammatory Breast Cancer (IBC): An Analysis Based on

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

- Biologic Subtypes and Demographic Characteristics. *Int J Environ Res Public Health*. janv 2019;16(1):124.
96. Costa R, Santa-Maria CA, Rossi G, Carneiro BA, Chae YK, Gradishar WJ, et al. Developmental therapeutics for inflammatory breast cancer: Biology and translational directions. *Oncotarget*. 14 févr 2017;8(7):12417-32.
 97. Van Laere SJ, Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Vandenberghe M, van Dam P, Van Marck EA, et al. Identification of cell-of-origin breast tumor subtypes in inflammatory breast cancer by gene expression profiling. *Breast Cancer Res Treat*. 1 févr 2006;95(3):243-55.
 98. Matsuda N, Lim B, Wang Y, Krishnamurthy S, Woodward W, Alvarez RH, et al. Identification of frequent somatic mutations in inflammatory breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1 juin 2017;163(2):263-72.
 99. Medford AJ, Gillani RN, Park BH. Detection of Cancer DNA in Early Stage and Metastatic Breast Cancer Patients. In: Karlin-Neumann G, Bizouarn F, éditeurs. *Digital PCR* [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2018 [cité 1 août 2020]. p. 209-27. (Methods in Molecular Biology; vol. 1768). Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-7778-9_13
 100. Clatot F, Perdrix A, Augusto L, Beaussire L, Delacour J, Calbrix C, et al. Kinetics, prognostic and predictive values of ESR1 circulating mutations in metastatic breast cancer patients progressing on aromatase inhibitor. *Oncotarget*. 15 2016;7(46):74448-59.
 101. Allouchery V, Beaussire L, Perdrix A, Sefrioui D, Augusto L, Guillemet C, et al. Circulating ESR1 mutations at the end of aromatase inhibitor adjuvant treatment and after relapse in breast cancer patients. *Breast Cancer Res*. 16 mai 2018;20(1):40.
 102. Winn JS, Hasse Z, Slifker M, Pei J, Arisi-Fernandez SM, Talarchek JN, et al. Genetic Variants Detected Using Cell-Free DNA from Blood and Tumor Samples in Patients with Inflammatory Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 14 févr 2020;21(4).
 103. Dirican E, Akkiprik M, Özer A. Mutation distributions and clinical correlations of PIK3CA gene mutations in breast cancer. *Tumor Biol*. juin 2016;37(6):7033-45.
 104. Takeshita T, Yamamoto Y, Yamamoto-Ibusuki M, Inao T, Sueta A, Fujiwara S, et al. Prognostic role of PIK3CA mutations of cell-free DNA in early-stage triple negative breast cancer. *Cancer Sci*. nov 2015;106(11):1582-9.
 105. Bhat-Nakshatri P, Goswami CP, Badve S, Magnani L, Lupien M, Nakshatri H. Molecular Insights of Pathways Resulting from Two Common PIK3CA Mutations in Breast Cancer. *Cancer Res*. 1 juill 2016;76(13):3989-4001.
 106. Yang SX, Polley E, Lipkowitz S. New insights on PI3K/AKT pathway alterations and clinical outcomes in breast cancer. *Cancer Treat Rev*. avr 2016;45:87-96.

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

107. Atkinson RL, El-Zein R, Valero V, Lucci A, Bevers TB, Fouad T, et al. Epidemiological Risk Factors Associated with Inflammatory Breast Cancer Subtypes. *Cancer Causes Control CCC*. mars 2016;27(3):359-66.
108. Schairer C, Li Y, Frawley P, Graubard BI, Wellman RD, Buist DSM, et al. Risk Factors for Inflammatory Breast Cancer and Other Invasive Breast Cancers. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 18 sept 2013;105(18):1373-84.
109. Liang X, Vacher S, Boulai A, Bernard V, Baulande S, Bohec M, et al. Targeted next-generation sequencing identifies clinically relevant somatic mutations in a large cohort of inflammatory breast cancer. *Breast Cancer Res BCR*. 07 2018;20(1):88.
110. Ross JS, Ali SM, Wang K, Khaira D, Palma NA, Chmielecki J, et al. Comprehensive genomic profiling of inflammatory breast cancer cases reveals a high frequency of clinically relevant genomic alterations. *Breast Cancer Res Treat*. nov 2015;154(1):155-62.
111. Papaxoinis G, Kotoula V, Alexopoulou Z, Kalogeras KT, Zagouri F, Timotheadou E, et al. Significance of *PIK3CA* Mutations in Patients with Early Breast Cancer Treated with Adjuvant Chemotherapy: A Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG) Study. *PloS One*. 2015;10(10):e0140293.
112. van Uden DJP, van Maaren MC, Bult P, Strobbe LJA, van der Hoeven JJM, Blanken-Peeters CFJM, et al. Pathologic complete response and overall survival in breast cancer subtypes in stage III inflammatory breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;176(1):217-26.
113. Study of Immunotherapy in Combination With Chemotherapy in HER2-negative Inflammatory Breast Cancer - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [cité 30 sept 2020]. Disponible sur: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03515798>
114. Gautschi O, Bigosch C, Huegli B, Jermann M, Marx A, Chassé E, et al. Circulating deoxyribonucleic Acid as prognostic marker in non-small-cell lung cancer patients undergoing chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 15 oct 2004;22(20):4157-64.
115. Zitt M, Müller HM, Rochel M, Schwendinger V, Zitt M, Goebel G, et al. Circulating cell-free DNA in plasma of locally advanced rectal cancer patients undergoing preoperative chemoradiation: a potential diagnostic tool for therapy monitoring. *Dis Markers*. 2008;25(3):159-65.
116. Park K, Woo M, Kim JE, Ahn J-H, Jung KH, Roh J, et al. Efficacy of assessing circulating cell-free DNA using a simple fluorescence assay in patients with triple-negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy: a prospective observational study. *Oncotarget*. 21 déc 2017;9(3):3875-86.

Le serment d'Hippocrate

“Au moment d’être admis(e) 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 de 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. Admis(e) dans l’intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) 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 déshonoré(e) et méprisé(e) si j’y manque.”

Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique

Violette ALLOUCHERY

DATE DE SOUTENANCE : 14 Octobre 2020

Titre : Détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique.

Résumé : Le cancer du sein inflammatoire (CSI) est un sous-type de cancer du sein agressif et de mauvais pronostic, caractérisé par une rapide évolutivité tumorale. Après confirmation histologique, le traitement de première ligne est basé sur la chimiothérapie. Une mutation somatique de *PIK3CA* est reportée dans 30% des CSI, ciblée par les inhibiteurs spécifiques de la sous-unité alpha de PI3K de développement récent, tel que l'alpelisib. L'objectif de cette étude était d'évaluer le taux de détection des mutations circulantes *PIK3CA* au diagnostic chez les patientes suivies pour un cancer du sein inflammatoire non métastatique présentant une mutation *PIK3CA* sur la biopsie initiale. Cette étude rétrospective monocentrique était basée sur du matériel tumoral et circulant disponible au diagnostic et incluait toutes les patientes prises en charge par chimiothérapie néo-adjuvante pour un CSI non métastatique. Les mutations *PIK3CA* (E524K, E544K, H1047R/L) étaient évaluées par droplet digital PCR (ddPCR) au sein des échantillons plasmatiques et tumoraux au diagnostic. Un total de 55 patientes traitées entre 2008 et 2018 sur le Centre Henri Becquerel, avec suffisamment d'ADN extrait des biopsies tumorales ont été incluses. 14 patientes sur 55 (25%) étaient mutées *PIK3CA* sur la biopsie initiale (H1047R=8 ; H1047L=3 ; E545K=2 ; E542K=1). Toutes les mutations étaient uniques. Parmi elles, 11 patientes (79%) avaient assez d'ADN plasmatique pour l'analyse mutationnelle circulante. Des mutations *PIK3CA* circulantes correspondantes ont été retrouvées chez 6/11 patientes (55%). Hormis ces 6 patientes, aucune autre mutation circulante *PIK3CA* n'a été identifiée parmi les 43 patientes présentant du matériel tumoral et circulant de qualité suffisante pour permettre une analyse mutationnelle interprétable. Nos résultats n'ont pas mis en évidence de valeur pronostique ou prédictive des mutations *PIK3CA* au diagnostic des CSI non métastatiques, mais ont démontré la valeur pronostique du taux d'ADN libre circulant (ADNlc) au diagnostic. Notre étude a permis d'identifier des mutations *PIK3CA* correspondantes circulantes chez 55% des patients mutées sur biopsie initiale alors qu'aucune mutation circulante n'a été trouvée parmi les patientes non mutées sur tissu tumoral. De futures études prospectives de plus grande ampleur sont attendues pour déterminer l'impact pronostique et thérapeutique des mutations circulantes *PIK3CA* chez les patientes suivies dans le cadre d'un CSI non métastatique.

Mots clefs : Cancer du sein inflammatoire, mutations *PIK3CA*, ADN tumoral circulant, PCR digitale.

Title: Circulating *PIK3CA* mutation detection at diagnosis in non-metastatic inflammatory breast cancer patients

Abstract: Inflammatory breast cancer (IBC) is an aggressive BC subtype with rapid onset and poor outcomes. After biopsy confirmation, first-line treatment is based on systemic chemotherapy. A targetable somatic *PIK3CA* mutation is reported in 30% of IBC, allowing for treatment by PI3K α -specific inhibitors, such as alpelisib. The aim of this study was to evaluate the detection rate of circulating *PIK3CA* mutation in non-metastatic IBC patients harbouring a *PIK3CA* mutation on initial biopsy. This monocentric retrospective study was based on available stored plasmas and biopsies at diagnosis and included all non-metastatic IBC patients who were treated by neo-adjuvant chemotherapy. *PIK3CA* mutations (E542K, E545K, H1047R/L) were assessed by droplet digital PCR (ddPCR) in plasma samples and tumoral tissue at diagnosis. A total of 55 patients treated between 2008 and 2018 in Henri Becquerel Center and with sufficient DNA from tumor tissue were included. 14/55 patients (25%) had a *PIK3CA* mutation identified on baseline biopsy (H1047R=8; H1047L=3; E545K=2; E542K=1). All mutations were single. Among them, 11 (79%) patients had enough circulating DNA for circulating mutations analyses. Corresponding circulating *PIK3CA* mutations were found in 6/11 patients (55%). Beside these 6 patients, no other circulating mutation was identified among the 43 patients with fully interpretable circulating and biopsy mutational analyses. Our results revealed no prognostic or predictive value of *PIK3CA* mutations at diagnosis of non-metastatic IBC but highlighted a prognostic value of cfDNA rate at diagnosis. Our study showed that corresponding circulating *PIK3CA* mutation was identified in 55% of non-metastatic IBC patients with baseline somatic *PIK3CA* mutation on tumor tissue while no circulating mutation was found among non-mutated *PIK3CA* patients. Further studies are needed to determine the prognostic and therapeutic impact of circulating *PIK3CA* mutation in IBC patients.

Keywords: Inflammatory breast cancer, *PIK3CA* mutation, Circulating tumor DNA, Digital PCR.