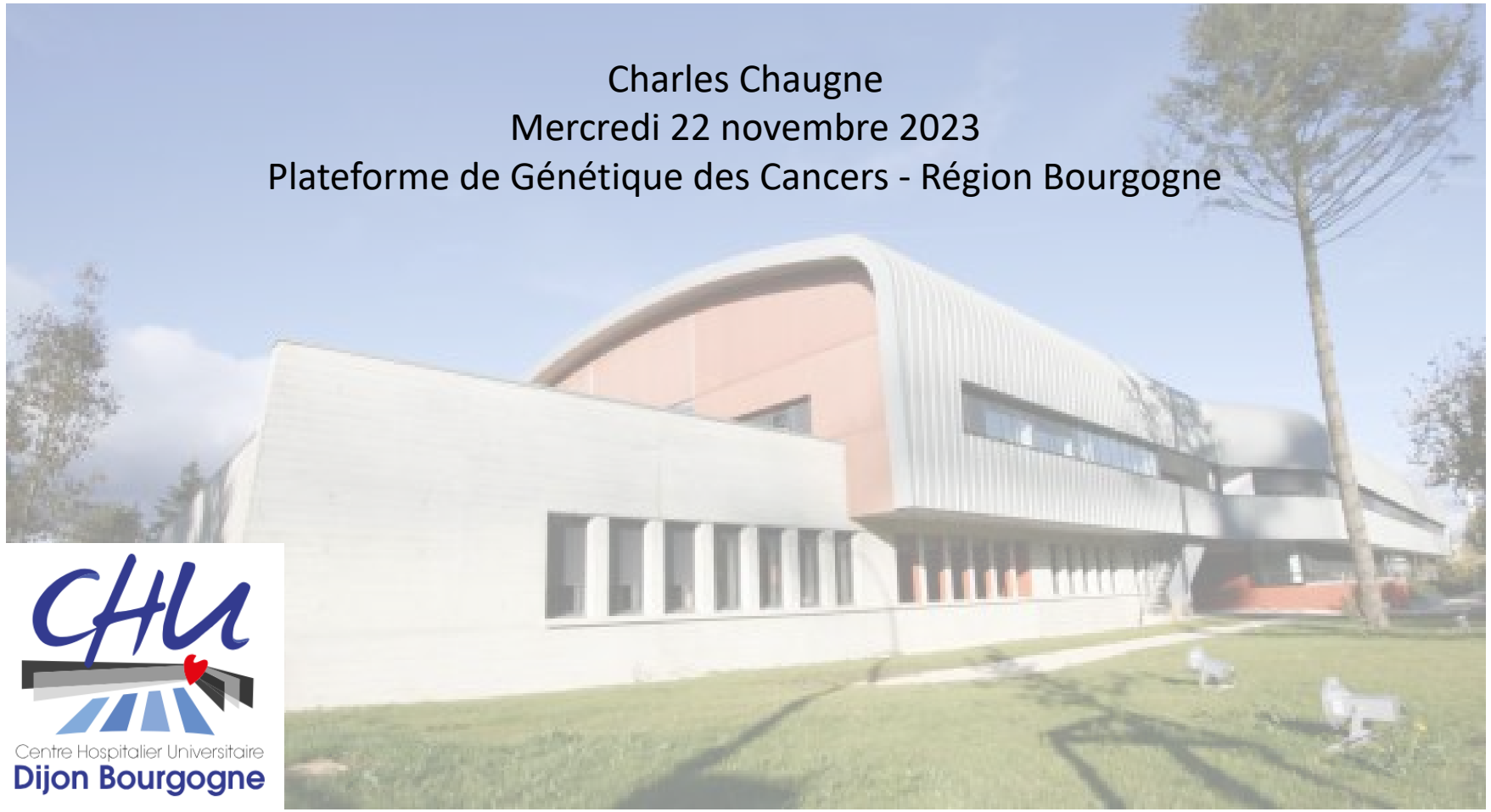
Recherche de transcrits de fusion par NGS et Cartouche Idylla :
Résultats comparatifs d'une série de 30 carcinomes pulmonaires non à petites cellules.

MILLIERE (1), B. TOURNIER (1,2), C. CHAUGNE (1), A. ZOUAK (3), L. PRUDENT L. (2), F.M. QUILOT (3), N. GRANGIER (2), J. MELIN (2), P. FOUCHER (3), C. CHAPUSOT (1,2), L. MARTIN (1,2)

(1) Service de Pathologie, CHU 21070 Dijon, France
(2) Plateforme de Génétique des cancers et des hémopathies malignes CHU 21070 Dijon, France
(3) Service de Pneumologie, CHU 21070 Dijon, France



Charles Chaugne
Mercredi 22 novembre 2023
Plateforme de Génétique des Cancers - Région Bourgogne

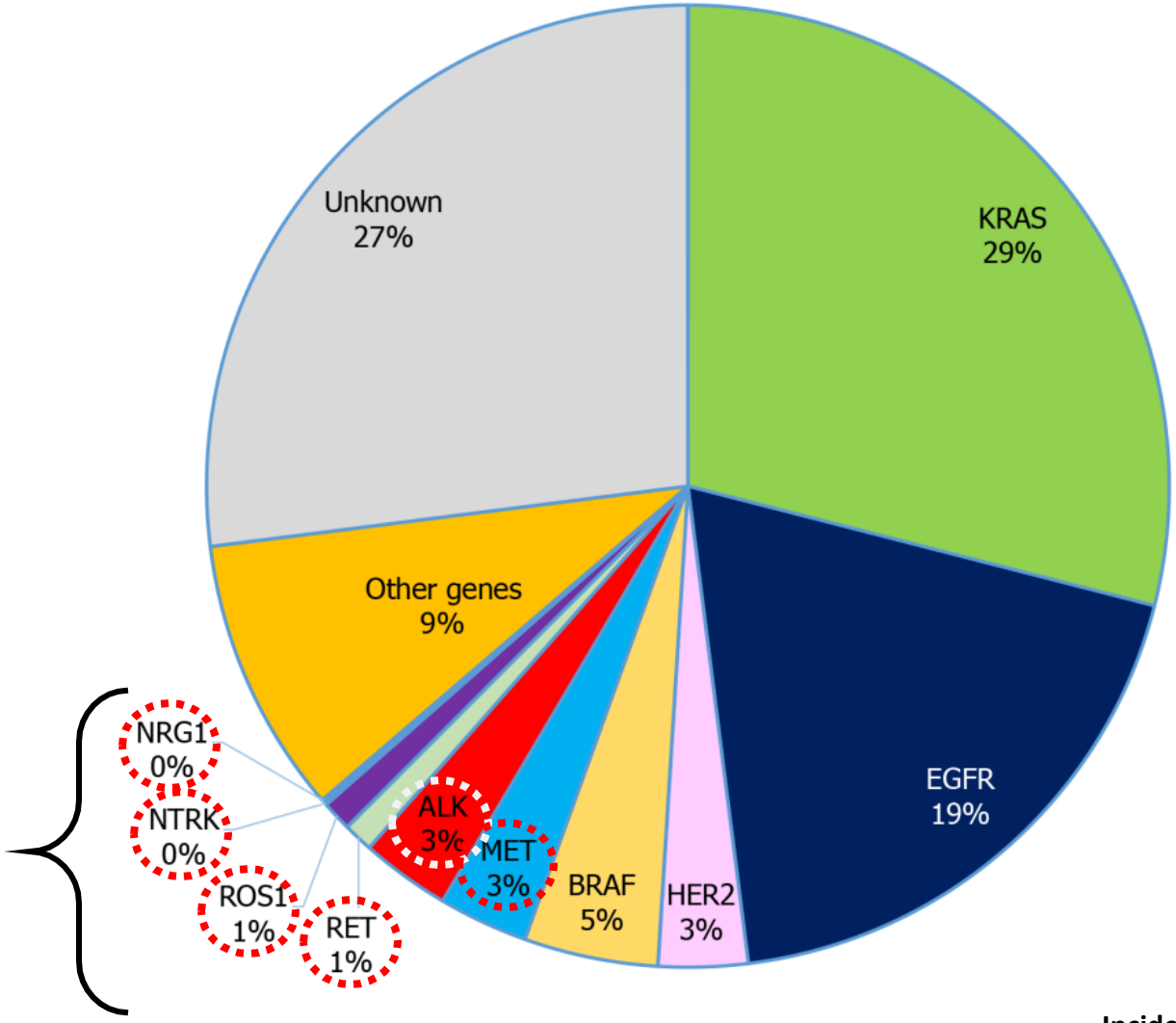
Centre Hospitalier Universitaire
Dijon Bourgogne

2023
22 au 24 novembre
CARREFOUR PATHOLOGIE

Liens d'intérêt

La société Biocartis a cédé gratuitement 42 cartouches IdyllaTM GeneFusion panel – CE-IVD pour la réalisation de ce travail

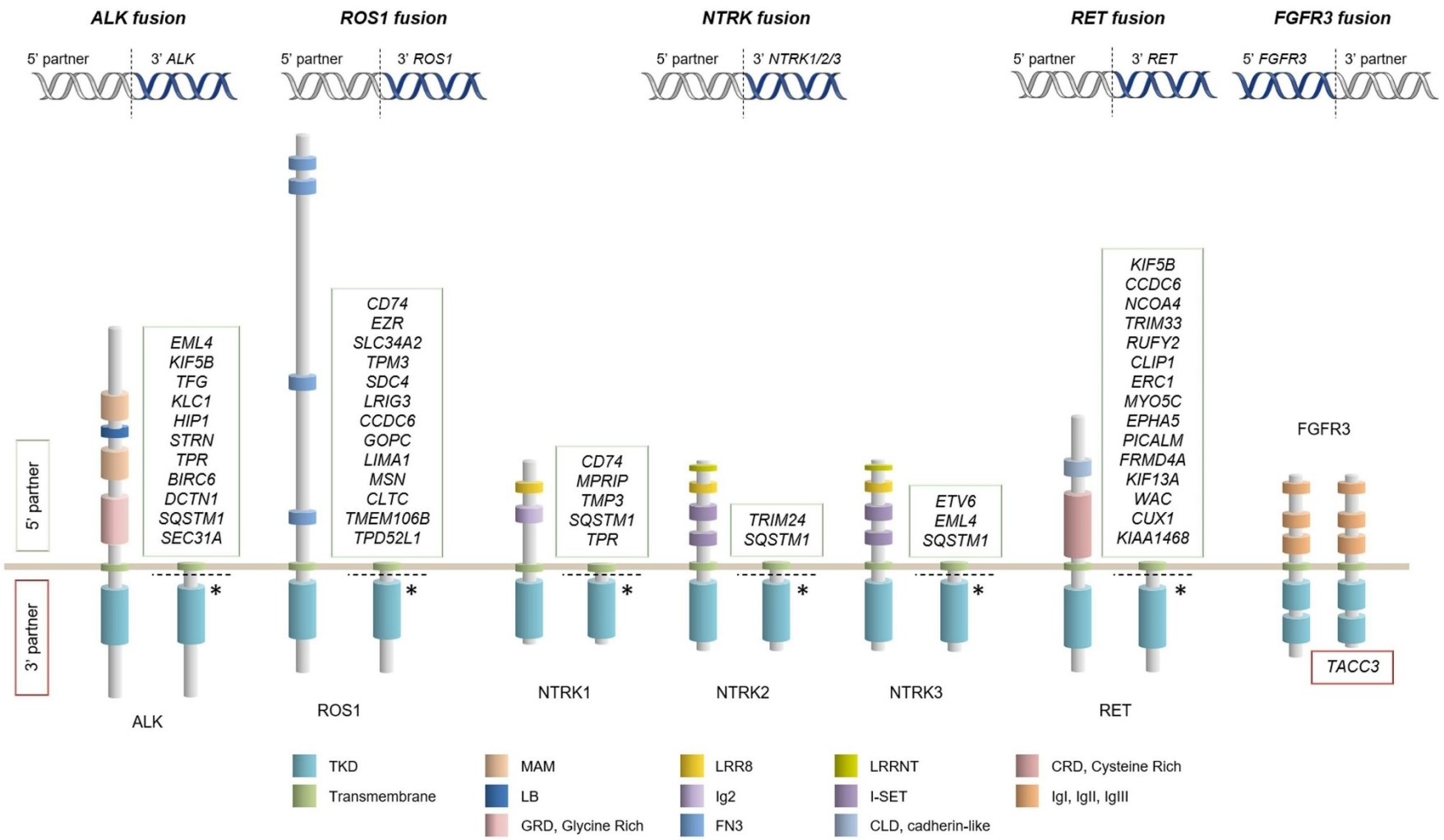
Principaux oncogènes « drivers » dans les cancers du poumon non à petites cellules



Principales fusions et anomalies d'épissage:
~ 8% de l'ensemble des oncogènes

Incidence of oncogenic drivers in non-small cell lung cancer.
Chevallier M, Borgeaud M, Addeo A, Friedlaender A. Oncogenic driver mutations in non-small cell lung cancer: Past, present and future. *World J Clin Oncol* 2021; 12(4): 217-237

Résumé des fusions de gènes dans les cancers du poumon



Structure moléculaire des fusions oncogéniques impliquant des RTK et leur partenaires de fusion les plus fréquents dans les cancers du poumon non à petites cellules.

Maria Saigí *et al.,* Cancer Treatment Reviews, 2022
Biological and clinical perspectives of the actionable gene fusions and amplifications involving tyrosine kinase receptors in lung cancer

« Actionnabilité » des fusions de gènes et anomalies d'épissage dans le cancer du poumon

Table 1 Selected oncogenic drivers and their treatments in non-small cell lung cancer

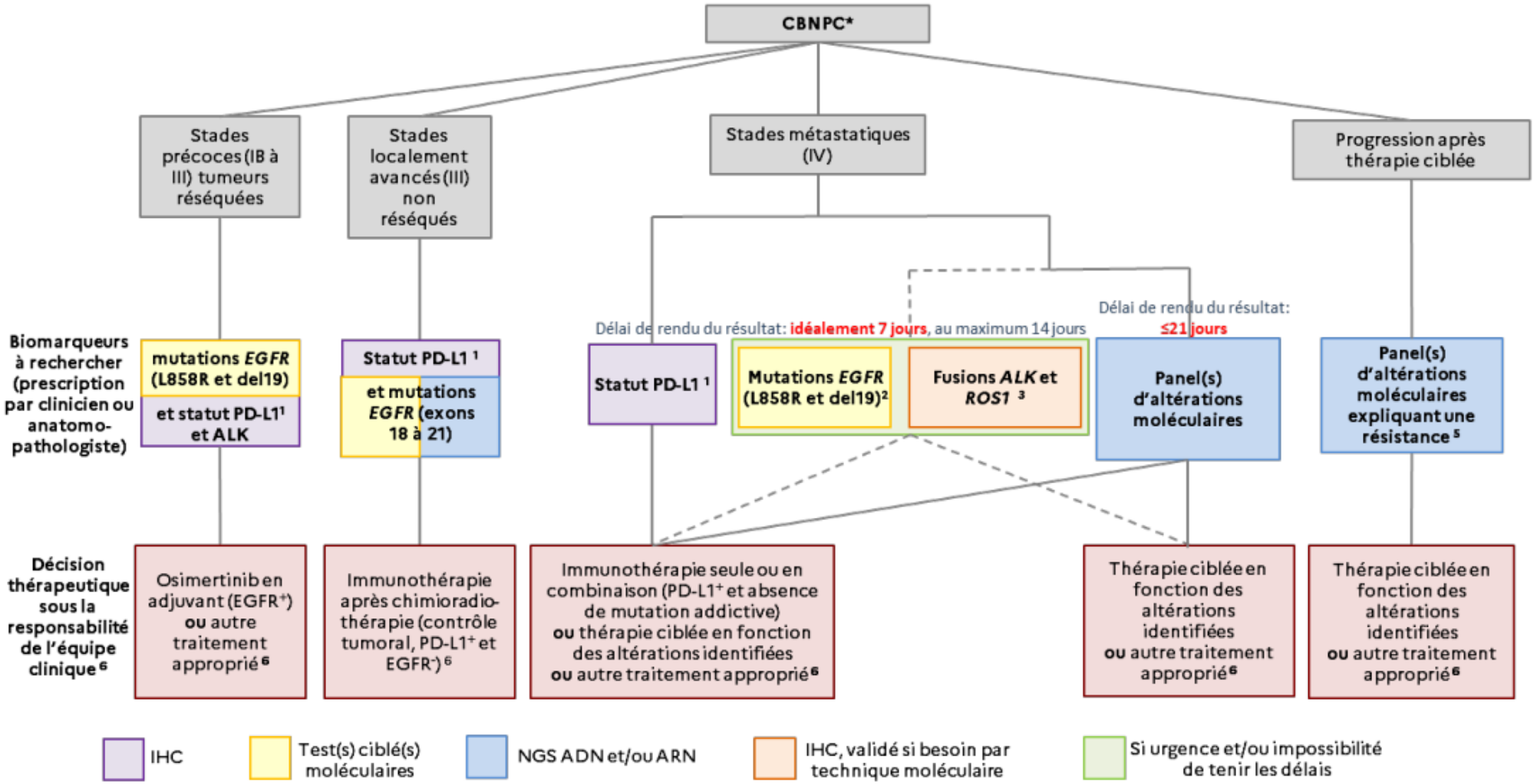
	Targeted therapy	ORR	PFS	OS
EGFR	Erlotinib[1][40]	62%-83%	9.7-13.1 mo	19.3-26.3 mo
	Gefitinib[1][6]	73.7%	9.5 mo	22 mo
	Afatinib[1][5]	56%-67%	11.1 mo	25.8 mo
	Dacomitinib[1][127]	74.9%	14.7 mo	34 mo
	Osimertinib[1][128]	80%	18.9 mo	38.6 mo
ALK	Crizotinib[1][53]	75.5%	11 mo	57 mo
	Ceritinib[1][129]	72.5%	16.6 mo	NA
	Brigatinib0[130]	79%	24 mo	NA
	Alectinib[1][131]	82.9%	35 mo	NA
	Lorlatinib[1][54]	76%	NA	NA
ROS1	Crizotinib[1][132]	63-72%	15.9-19.2 mo	51 mo
	Lorlatinib[1][133]	62%	19.3 mo	NA
	Entrectinib[1][134]	77%	19 mo	NA
BRAF	Dabrafenib-trametinib[1][135]	64%	10.9 mo	24.6 mo

	Targeted therapy	ORR	PFS	OS
MET	Crizotinib[50]	32%	7.3 mo	NA
	Cabozantinib[136]	NA	NA	NA
	Capmatinib[1][137]	68%	9.7 mo	NA
	Tepotinib[138]	46%	NA	NA
NTRK	Entrectinib[1][139]	70%	NA	NA
	Larotrectinib[1][140]	75%	NA	NA
RET	Selpercatinib[1][141]	85%	NA	NA
	Pralsetinib[1][121]	70%	NA	NA
KRAS	Sotorasib[142]	32.2%	10.2 mo	NA
	Adagrasib[143]	45%	NA	NA
HER2	Trastuzumab-deruxtecan[144]	62%	14 mo	NA
NRG1	Afatinib[112]	NA	NA	NA

Certaines de ces molécules sont accessibles en 1ère ligne pour les stades métastatiques → besoin de test rapide

Chevallier M *et al*. Oncogenes in NSCLC

Recommandations sur les tests à réaliser pour les cancers du poumon non à petites cellules



Patients atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules / Indications des tests moléculaires en vue de la prescription de traitements de précision, Synthèse, collection Recommandations et référentiels, Institut national du cancer, janvier 2023.

Méthodes en routine

Screening IHC + Séquençage haut débit d'ARN, panel Solid Tumor Solution Plus (Sophia Genetics)

Coupe bloc FFPE
Extractions ARN
+ Qualification/ Quantification

1,5 jour de manipulation

ARN totaux
(100ng)

Préparation des librairies de séquençage

- Synthèse ADN complémentaire
- Hybridation des amorces
- Amplification de la libraire
- Purification et dosage libraire
- Mélange des libraires et dosage

1 jour de manipulation

Séquençage haut débit (NGS)
26 heures (séquençage conjoint avec librairie ADN)

Analyse bio-informatique
(combinée avec analyse NGS ADN)

~ 4-8 heures

Panel couvert:

137 ARN de fusions de gènes, impliquant les gènes *ALK*, *BRAF*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *NTRK1*, *NTKR3*, *PPARG*, *RET* et *ROS1* + saut d'exon 14 *MET* + variant III *EGFR* (*EGFRvIII*)

Méthodes évaluées
Idylla™ GeneFusion panel – CE-IVD (Biocartis)

Copeaux
Bloc FFPE

ou

ARN
totaux

3 heures

Déparaffinage
Extraction acides nucléiques
PCR multipléxée
Détection et quantification

+

Déséquilibre d'expression pour les gènes
ALK, ROS1, RET

Fusion specific detection		
ALK fusions (17)	EML4-ALK	EML4 exon 2; ALK exon 20
		EML4 exon 6a; ALK exon 20
		EML4 exon 6b; ALK exon 20
		EML4 exon 13; ALK exon 20
		EML4 exon 15; ALK exon 20
		EML4 exon 17; ALK exon 20
		EML4 exon 18; ALK exon 20
		EML4 exon 20; ALK exon 20
	KIF5B-ALK	KIF5B exon 15; ALK exon 20
		KIF5B exon 17; ALK exon 20
		KIF5B exon 24; ALK exon 20
	HIP1-ALK	HIP1 exon 28; ALK exon 20
		HIP1 exon 30; ALK exon 20
	KLC1-ALK	KLC1 exon 9; ALK exon 20
	TPR-ALK	TPR exon 15; ALK exon 20
	TFG-ALK	TFG exon 4; ALK exon 20
		TFG exon 6; ALK exon 20
ROS1 fusions (13)	CD74-ROS1	CD74 exon 6; ROS1 exon 32
		CD74 exon 6; ROS1 exon 34
	SDC4-ROS1	SDC4 exon 2; ROS1 exon 32
		SDC4 exon 4; ROS1 exon 32
		SDC4 exon 4; ROS1 exon 34
	SLC34A2-ROS1	SLC34A2 exon 4; ROS1 exon 32
		SLC34A2 exon 4; ROS1 exon 34
		SLC34A2 exon 13; ROS1 exon 32
	EZR-ROS1	EZR exon 10; ROS1 exon 34
	TPM3-ROS1	TPM3 exon 8; ROS1 exon 35
	GOPC-ROS1	GOPC exon 4; ROS1 exon 36
		GOPC exon 8; ROS1 exon 35
	LRIG3-ROS1	LRIG3 exon 16; ROS1 exon 35
RET fusions (7)	KIF5B-RET	KIF5B exon 15; RET exon 11
		KIF5B exon 15; RET exon 12
		KIF5B exon 16; RET exon 12
		KIF5B exon 22; RET exon 12
		KIF5B exon 23; RET exon 12
		KIF5B exon 24; RET exon 11
	CCDC6-RET	CCDC6 exon 1; RET exon 12
MET Exon 14 skipping	MET Exon 14 skipping transcript detection at the exon 13-exon 15 junction	

Méthodes

Liste d'échantillons testés

30 échantillons patients

HES de 25% à 80% de cell. tumorales, 1 cas à 15%

screening IHC + confirmation NGS :

- 14 cas sans altération
- 16 cas avec fusion/anomalie épissage:

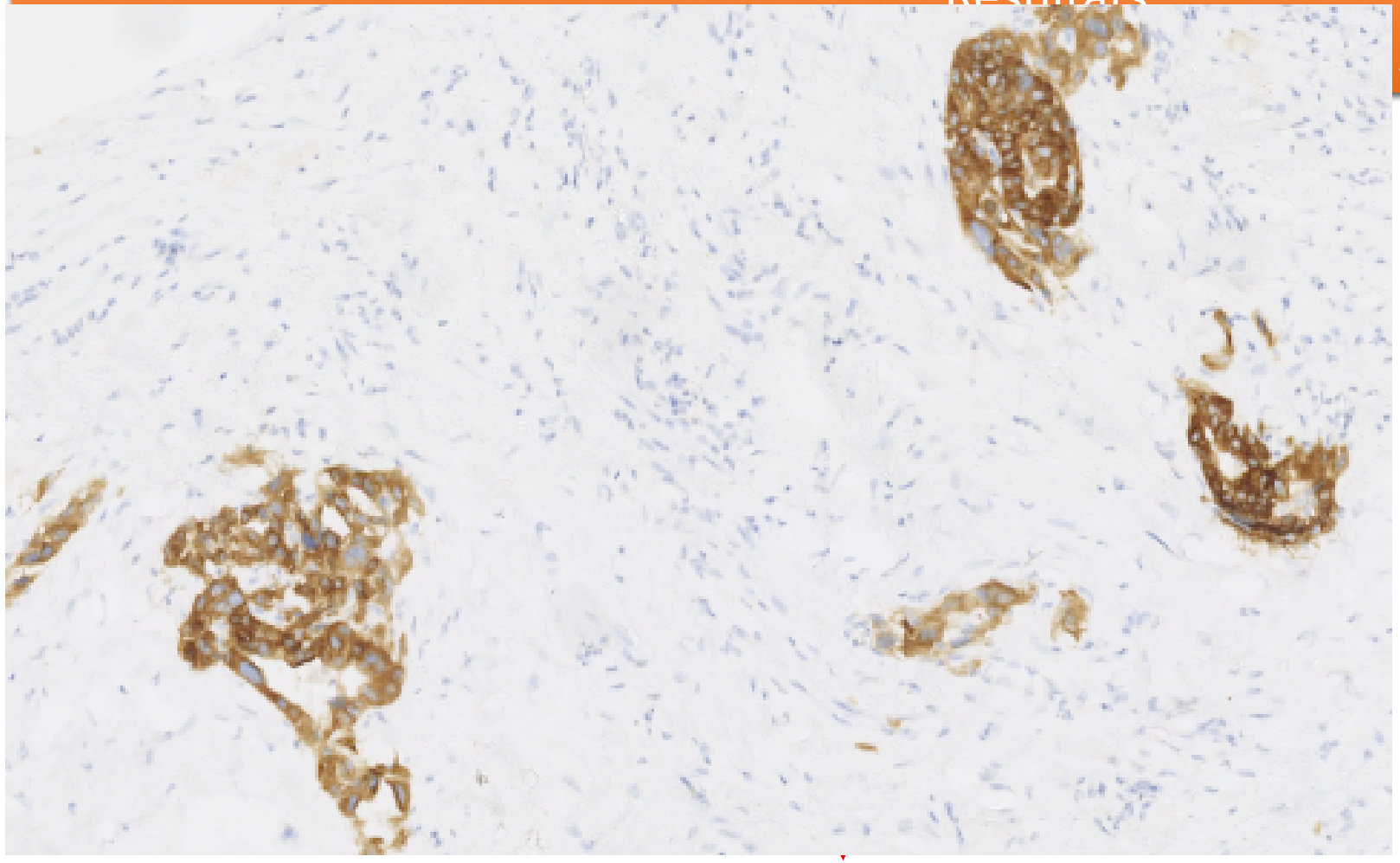
EML4::ALK	6
KIF5B::RET	3
CD74::ROS1	3
EZR::ROS1	1
NCOA4::RET	1
Saut d'exon 14 *MET*	2

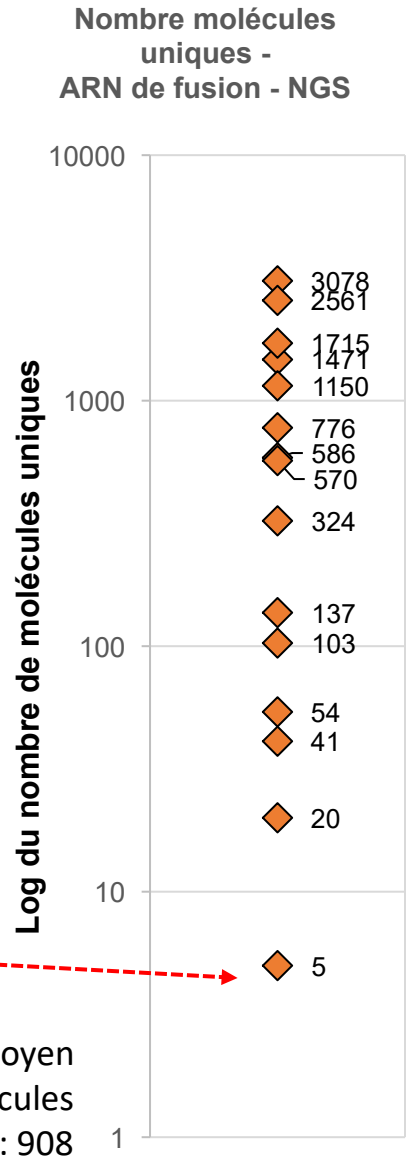
22 échantillons → Idylla GeneFusion
3 copeaux FFPE de 5 µM → Validation initiale ok

30 échantillons → Idylla GeneFusion
100 ng ARN pré-extrait → ?

Résultats

ARN





15% de cellules tumorales sur la zone choisie (+ de 20% pour tous les autres échantillons)

ALK 3+ en IHC pour 100% des cellules tumorales

Fusion *EML4*::*ALK* faiblement présente au niveaux ARN (5 molécules uniques en NGS)

Nombre moyen de molécules uniques: 908

Résultats

NGS STS PLUS vs Idylla GeneFusion 100ng ARN

15 cas positifs confirmés

- 13 cas de fusions clairement identifiées
- 2 cas de déséquilibre d'expression:

Fusion exons 1-7 *NCOA4* et exons 12-20 *RET*

→ Ne fait pas partie du panel donc attendu

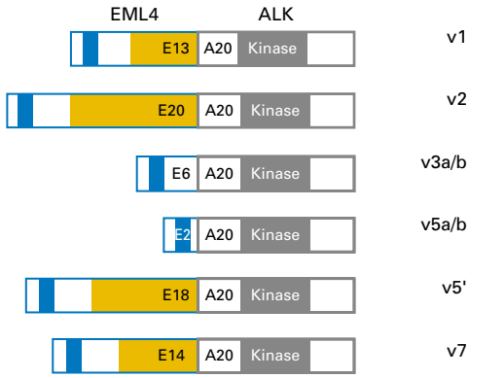
Fusion exons 1-20 *EML4* exons 20-29 *ALK*

→ Fait partie du panel donc devrait être clairement identifiée.

Conclusions

Idylla GeneFusion

- ✚ Technique rapide et fiable
- ✚ Adaptée aux situations de confirmation pour les cas prioritaires
- ✚ Méthode dégradée si problème de séquençage ou analyse bio-informatique
- ➖ Ne permet pas de détecter les fusions *NTRK1/2/3*
- ➖ Pas de détail sur les fusions détectées (exons impliqués), exemple:



Jessica J. Lin *et al.*, Journal of Clinical Oncology, 2018
Figure 1

Merci de votre attention

Centre Hospitalier Universitaire
Dijon Bourgogne

Résultats

Idylla GeneFusion copeaux FFPE vs Idylla GeneFusion 100ng ARN

		Idylla GeneFusion 100ng ARN	
		Positif	**Négatif**
Idylla GeneFusion copeaux FFPE	**Positif**	9	1
	Négatif	1	11

Sensibilité: 90,0%

Spécificité: 91,7%