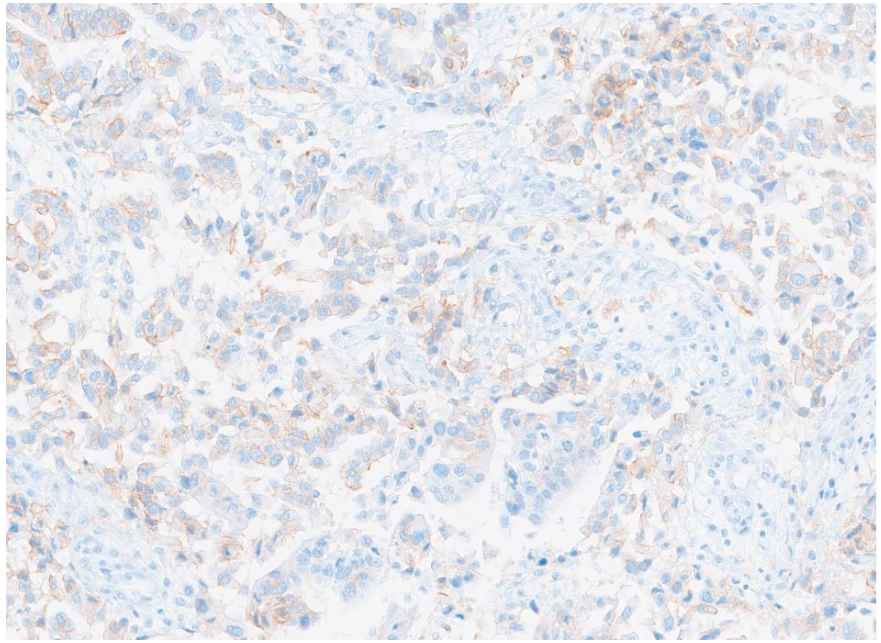


Quel témoin pour les tumeurs HER2low?

MC Mathieu, A Fitouri, S Piterboth, S Vignaud, A Valent

Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France

Carrefour de Pathologie – 17 novembre 2022

Conflits d’intérêt

Consultant training:
MSD, Astra Zeneca, Mammotome

Research funds:
Samantree medical, AstraZenaca

Contexte

- Importance de la détection des tumeurs HER2-low car des traitements sont en cours de développement dans cette catégorie de cancers.
- HER2-low:
  - Lecture plus précise des faibles marquages pour différencier les scores 0 de 1+
  - Pas de changement de technique
- Les questions actuelles sur les aspects techniques de l'évaluation du statut HER2-low:
  1. Quelle est l'influence des facteurs pré-analytiques sur le seuil 0 vs 1+?
  2. Quelle est l'influence des types d'anticorps sur la sensibilité de la technique?
  3. Quelle est l'influence de l'hétérogénéité tumorale?
  4. **Peut-on établir une référence pour distinguer les marquages 0 et 1+?**

Allison JAMA 2022

Peut-on établir une référence pour distinguer les marquages 0 et 1+?

- score 0 : tissu normal
- score 3+ : marquage intense continu en IHC confirmé par l’amplification en hybridation in situ

- score 1+: pas de référence standard

Utilisation de témoin score 1+

Les recommandations concernant les contrôles

- GEFPICS 2021:
  - **Témoins externes** (multitissulaires ou issus de lignées cellulaires) comportant au minimum un témoin négatif (tumeur et glande normale), un témoin 1+, un témoin 2+ amplifié. Ajout d'un cas 3+ amplifié conseillé.
  - **Témoin sur chaque lame** de score 3+ (contrôle du dépôt de l'anticorps et calibrage de l'intensité 3+). L'ajout d'un **témoin de score 1+ est conseillé**.
- Pas de recommandations ASCO récente

Franchet Ann Pathol 2021

Quel témoin pour contrôler le marquage HER2low ?

- Outils à notre disposition
  - Tumeur de score 1+ ou de score 2+ non amplifié
  - Lignées cellulaires

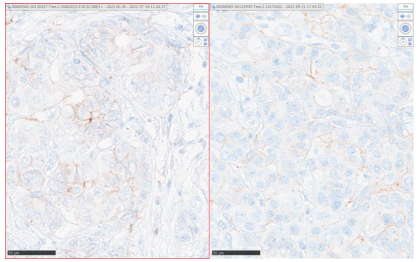
- Objectif du travail:
  - Sélectionner des témoins HER2-low fiables pour contrôler la technique
  - Analyser la reproductibilité
  - Evaluer l’apport de l’analyse cytogénétique pour les scores 1+

Matériel et méthodes

- Sélection de 16 tumeurs de score 1+ et 2+ non amplifié d'intensité de marquage différente et de répartition plus ou moins homogène
  - Score 1+:
    - 6 tumeurs marquage partiel, faible <50%
    - 5 tumeurs marquage partiel ou continu, faible >50%
    - 3 tumeurs avec marquage partiel, <u>modéré</u> et faible associé > 50%
  - Score 2+:
    - 2 tumeurs avec marquage continu modéré <50%

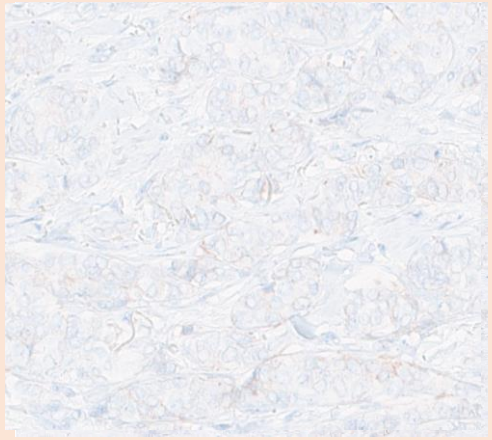
Matériel et méthodes

- Réalisation de 3 blocs multitissulaires par punchage des blocs de paraffine dans la zone la plus marquée
  - Punch de 5 mm (4 à 8 tumeurs par bloc)
  - Coupe de 20 lames
  - Conservation des lames à +4°C entre le 24/06/2022 et le 25/07/2022
- Technique IHC répétée 20 jours consécutifs:
  - Ac 4B5 (Roche), kit Ultraview DAB (Roche), Benchmark Ultra (Ventana)
  - Témoins habituels de technique journalière:
    - Lignée HISTOCYTE HER2 (témoin externe)
    - Tumeur de score 3+ (témoin sur lame)
- Numérisation des lames
- Lecture sur lame numérisée (score et comparaison de marquage)
- Analyse du statut HER2 par FISH



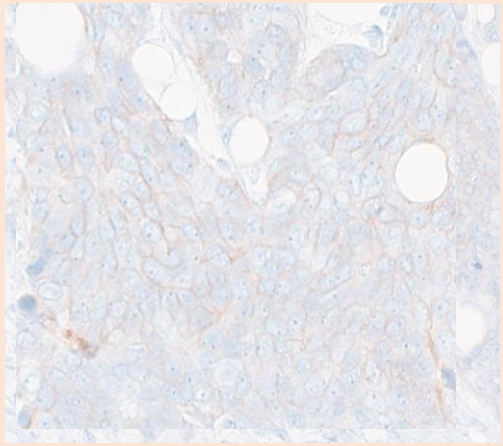
Résultats :
4 groupes selon le marquage sur bloc multitissulaire

Groupe 1 (n=5)



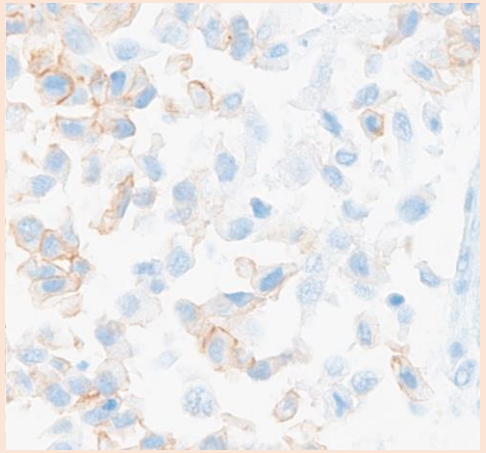
partiel, faible, <50%

Groupe 2 (n=5)



partiel ou continu, faible, >50%

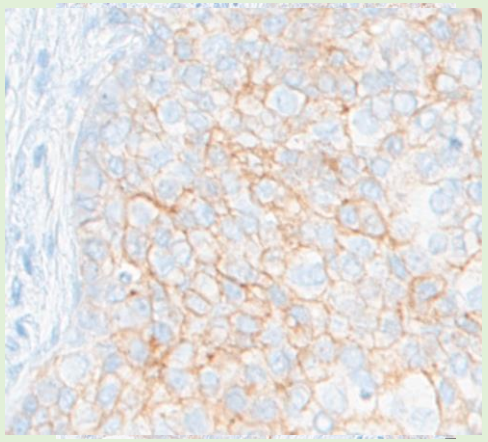
Groupe 3 (n=3)



partiel modéré et faible, >50%

score 1+

Groupe 4 (n=2)



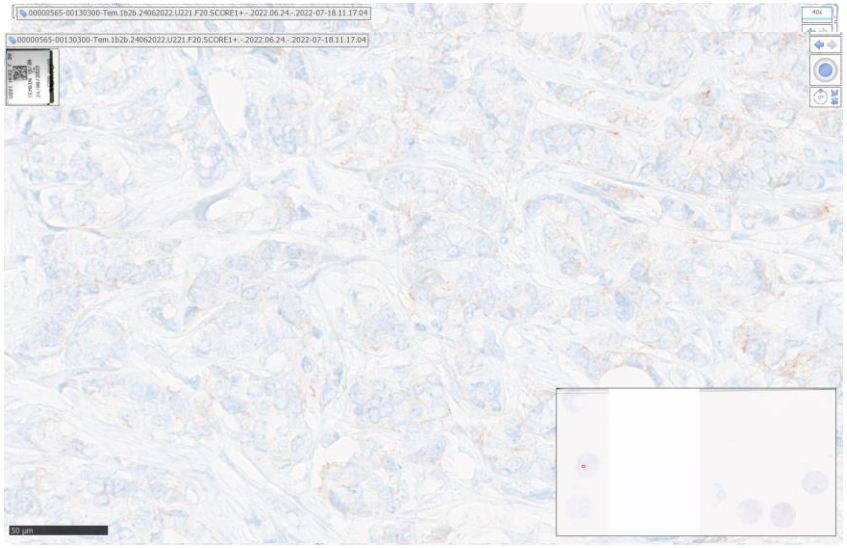
continu modéré, <50%

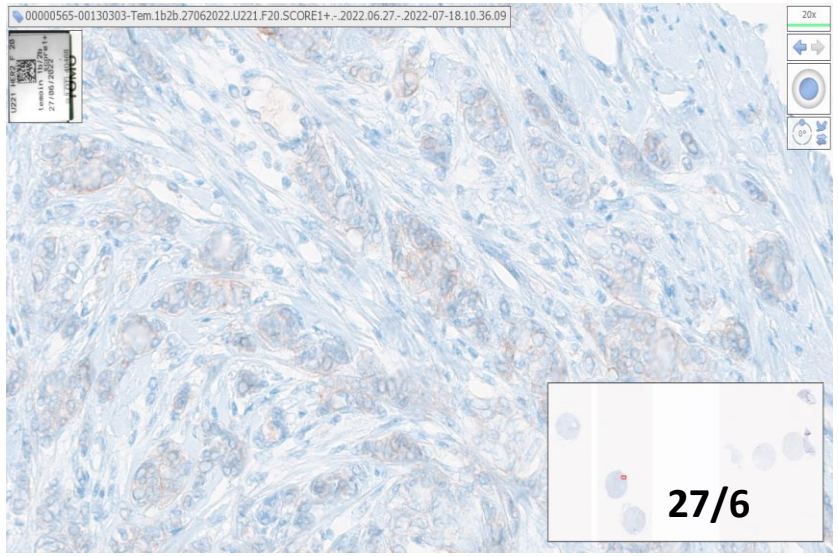
score 2+

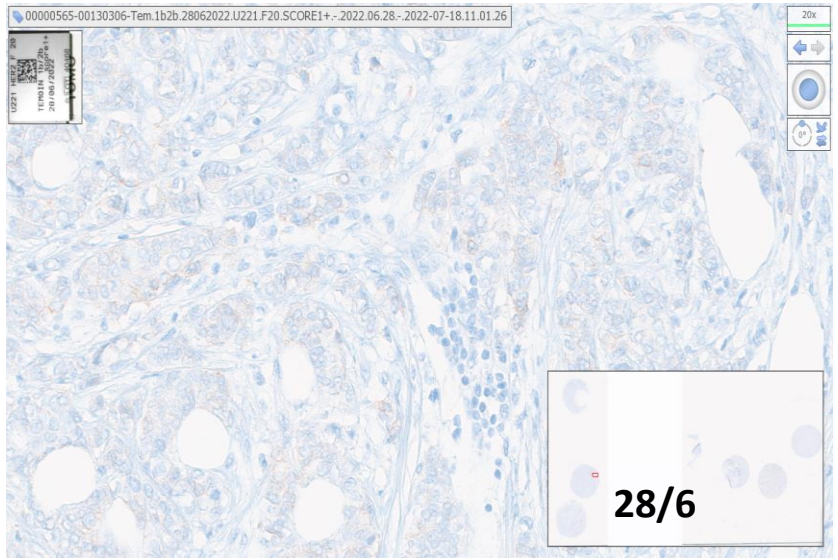
*1 cas exclus car ultralow (<10% de cellules avec marquage faible)

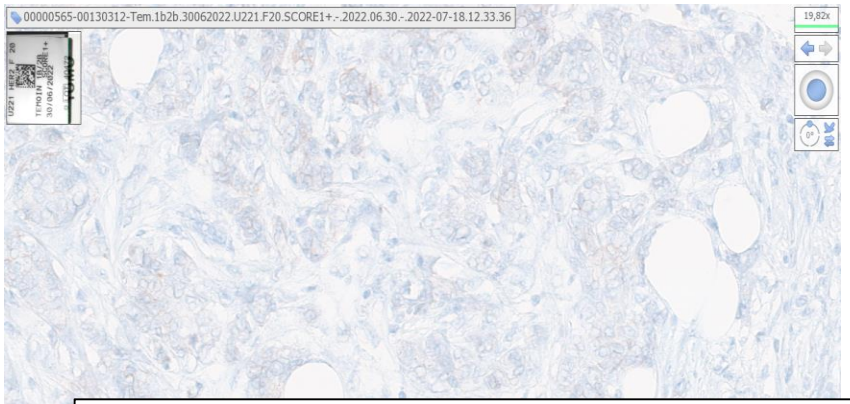
Photo x20 et x 40

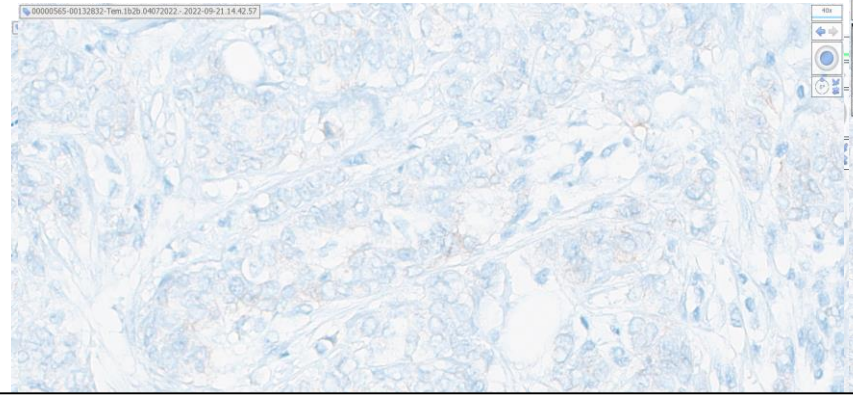
Groupe 1: score 1+ faible, partiel <50%

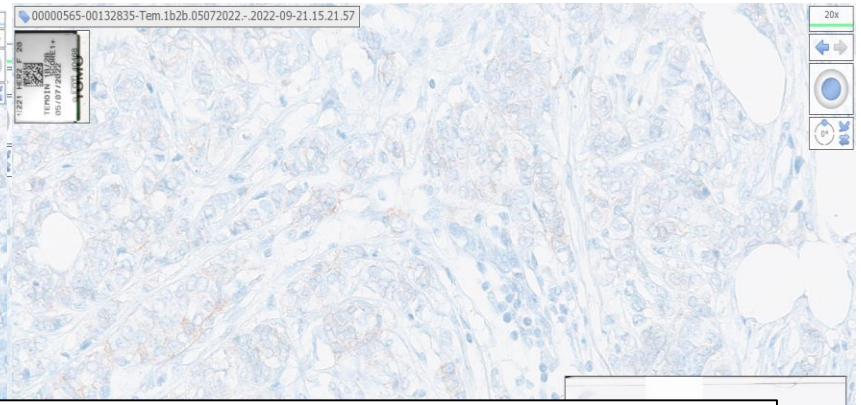






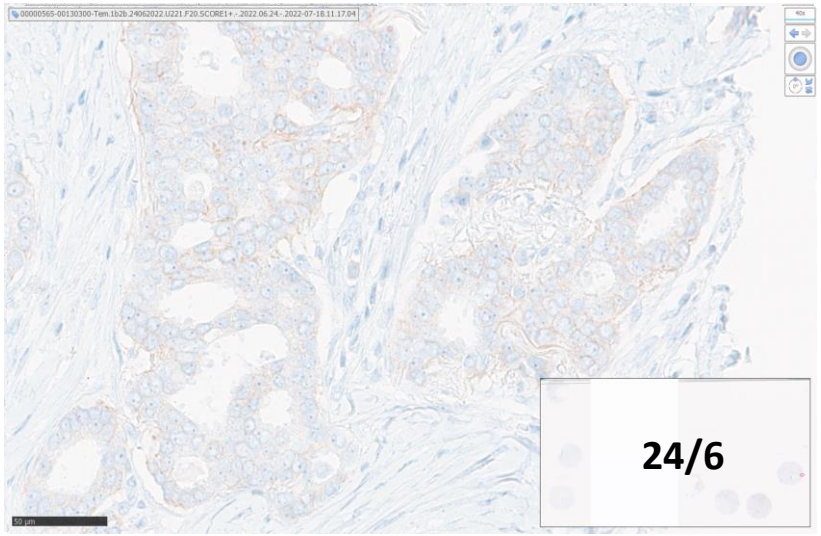


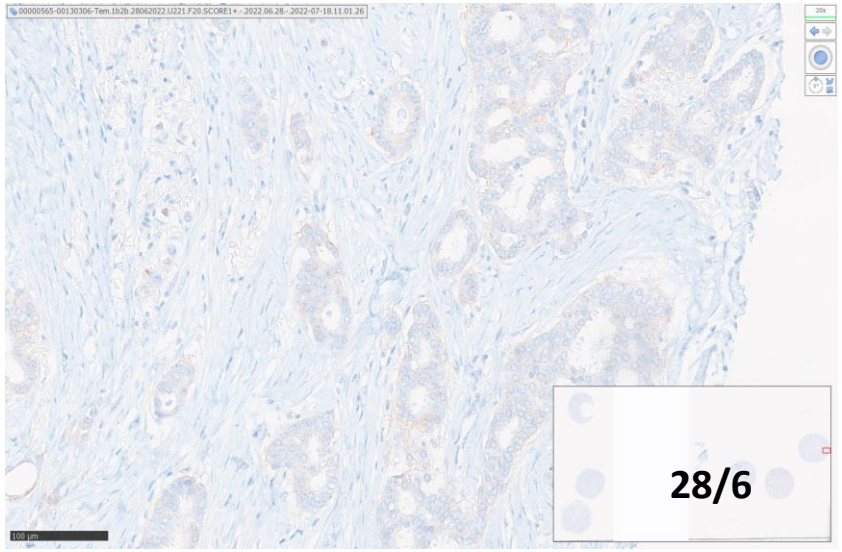


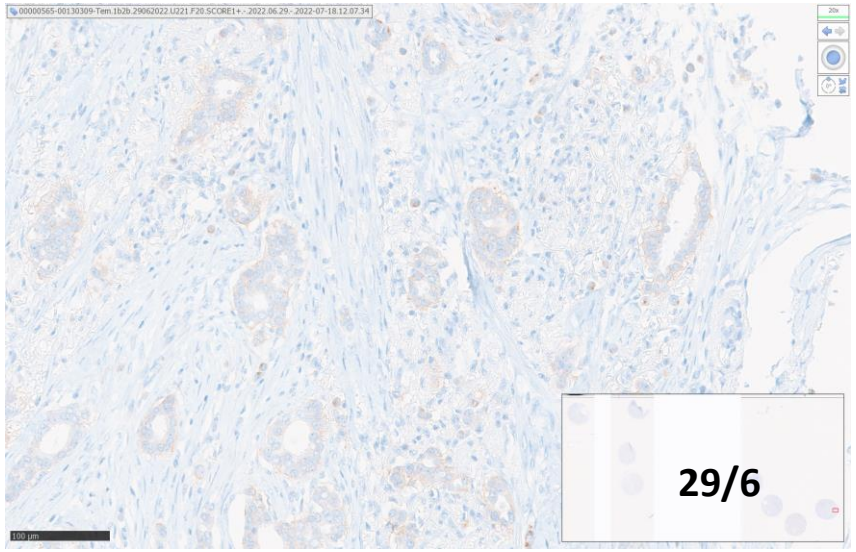


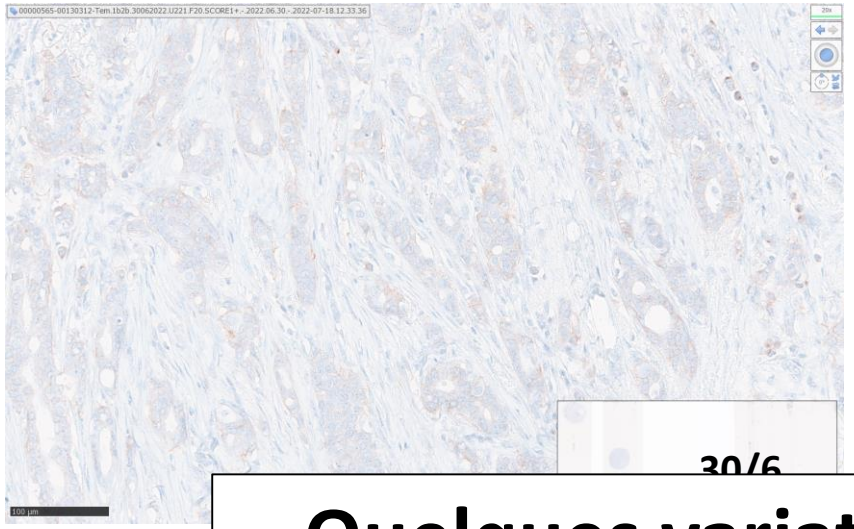
Variation d'intensité et reclassé en score 0 (ultra low)
dans 17% des cas (17/98 cas: 9 -3 -3-1-1 en fonction de la tumeur)

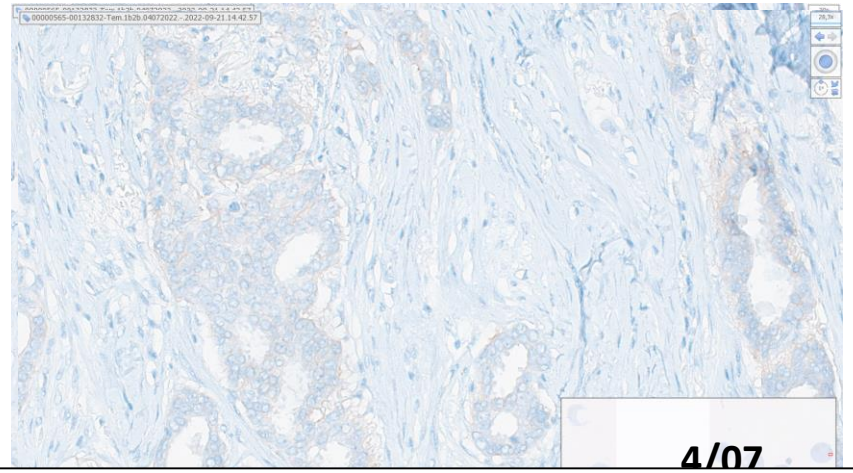
Groupe 2: score1+ faible, continu ou partiel >50%

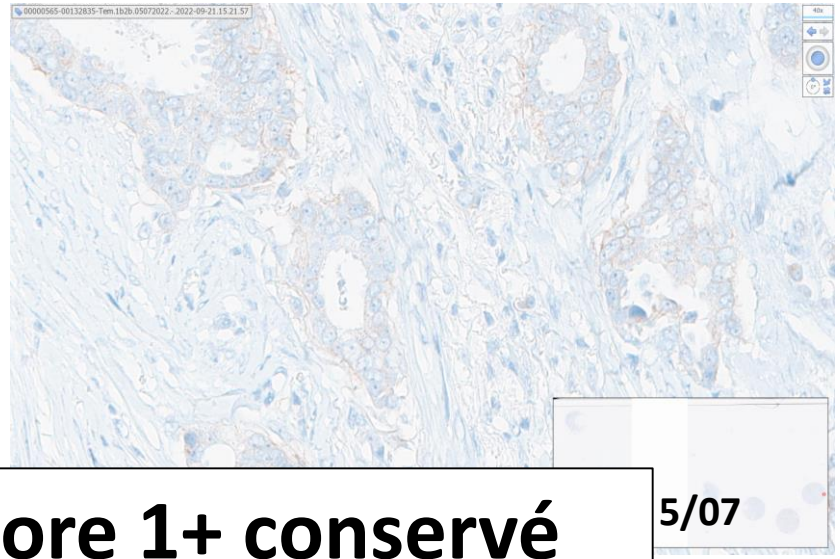








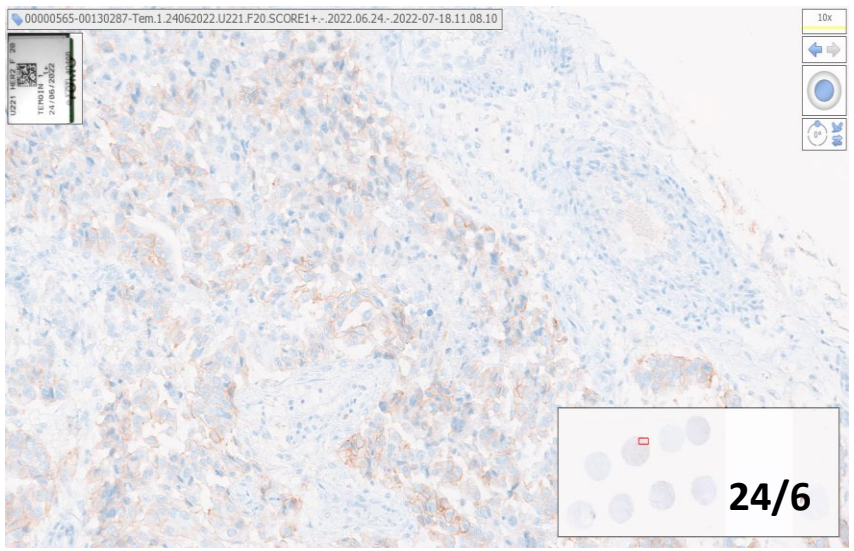


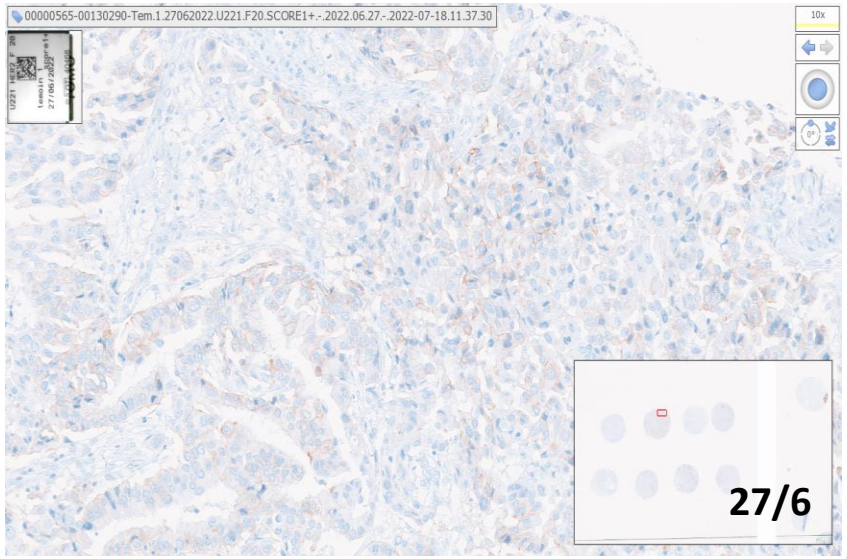


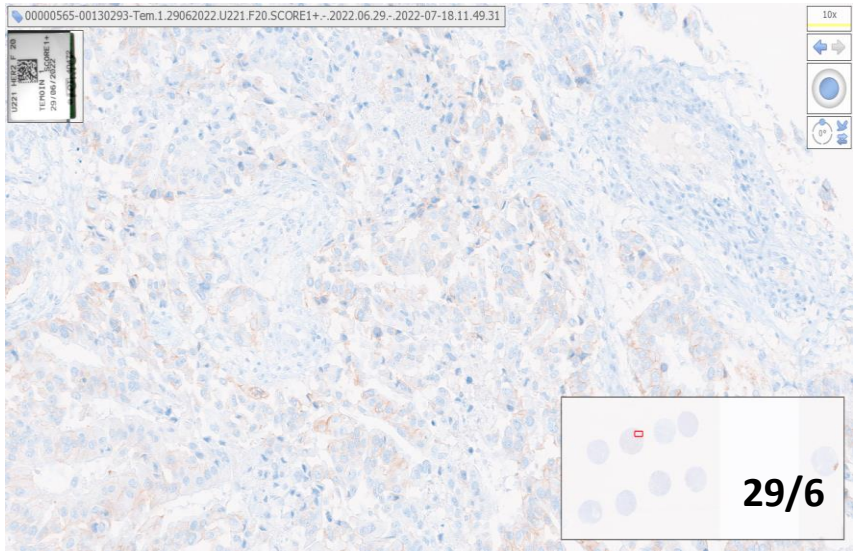
Quelques variations d'intensité mais score 1+ conservé

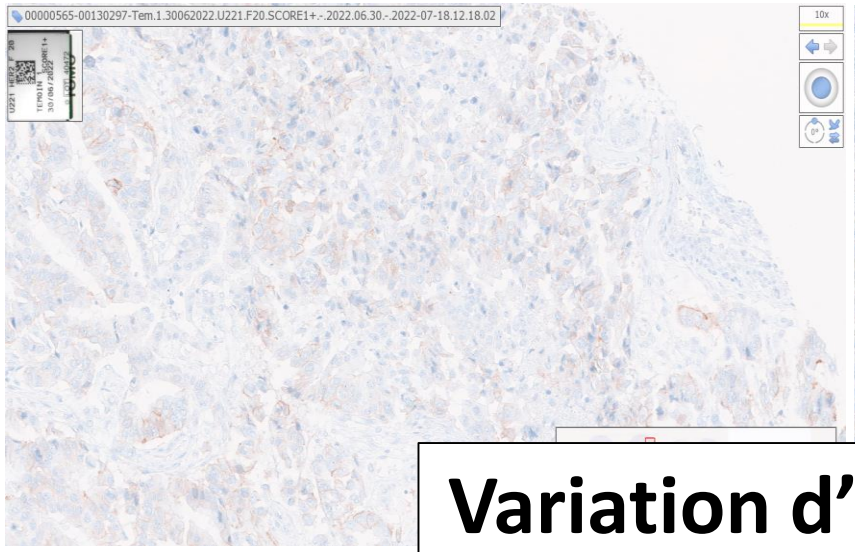
(excepté 1/100 cas (1%) ultra-low)

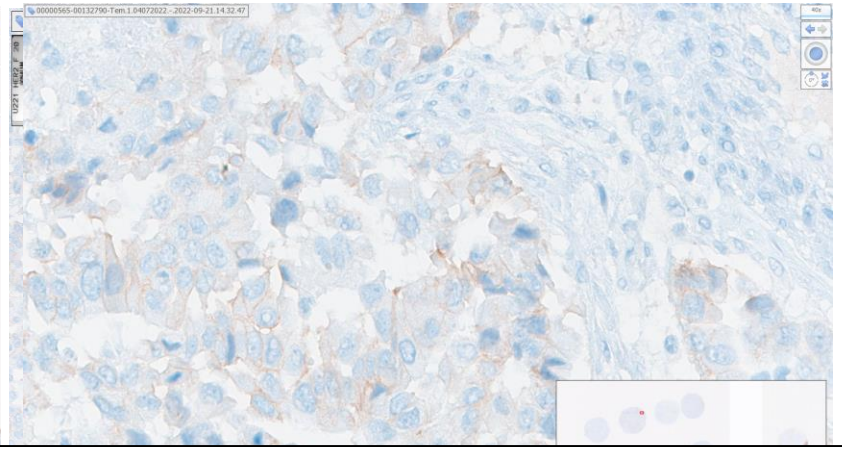
Groupe 3: score1+ partiel, modéré et faible >50%

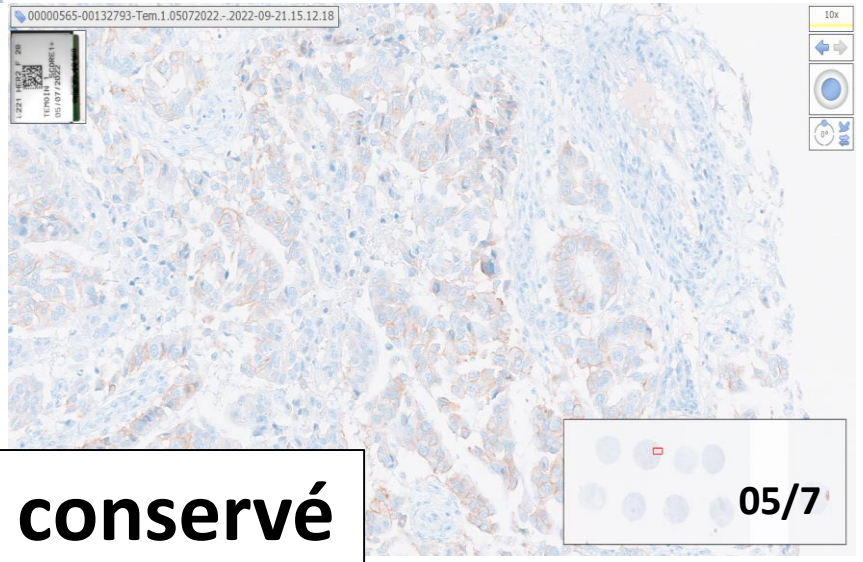








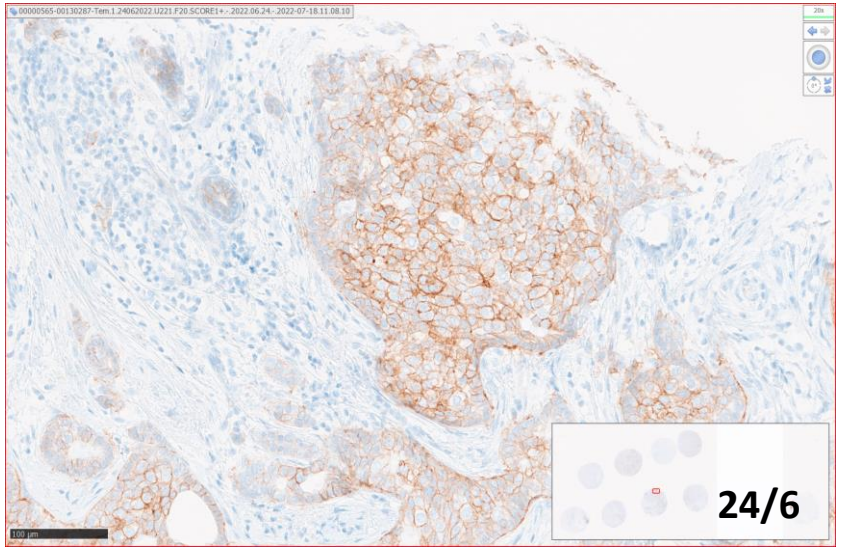


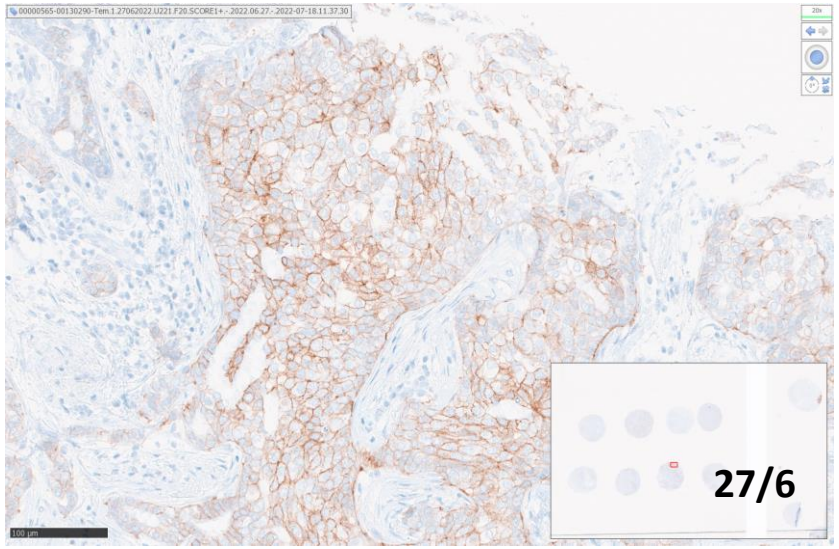


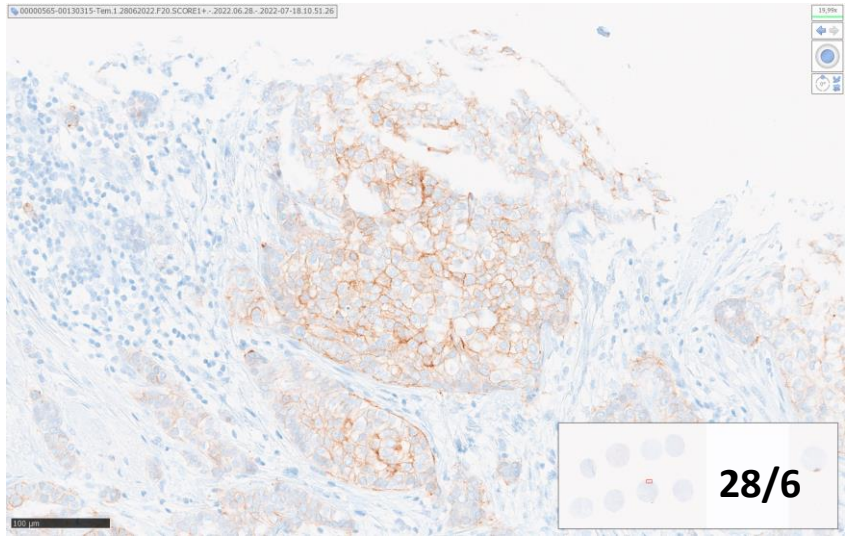
Variation d'intensité mais score 1+ conservé

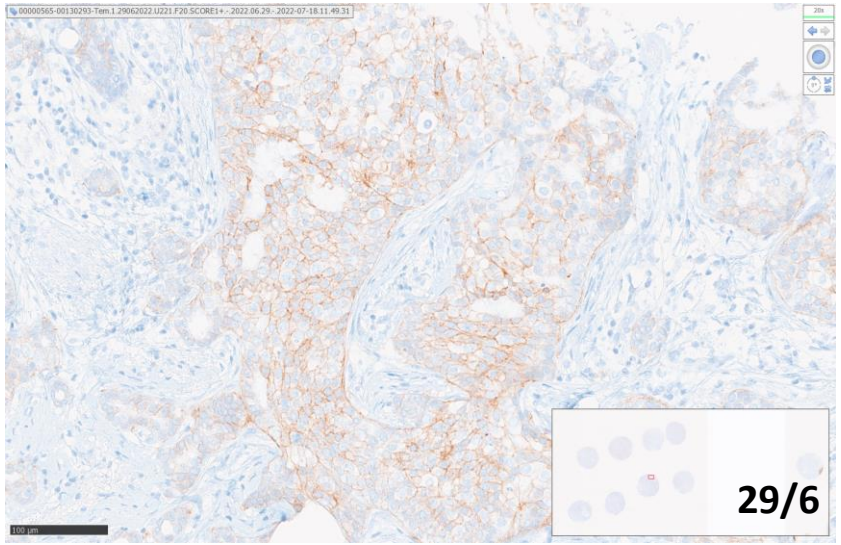
(excepté 3/60 cas (5%) (2 cas peu cellulaire -1) ultra-low

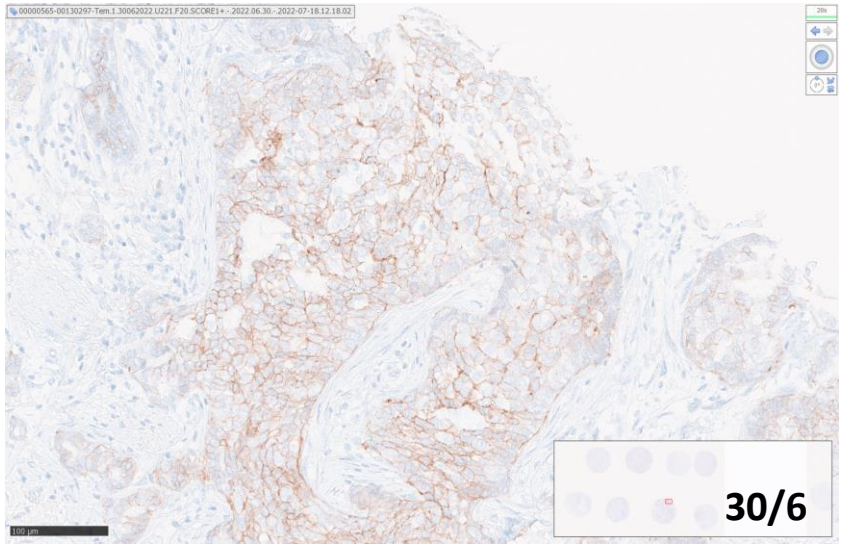
Groupe 4: score 2+ modéré, continu <50%

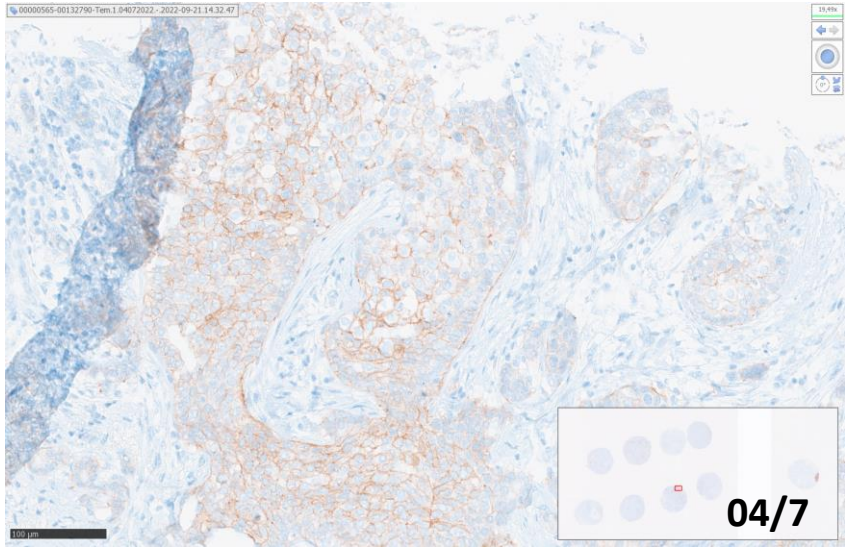








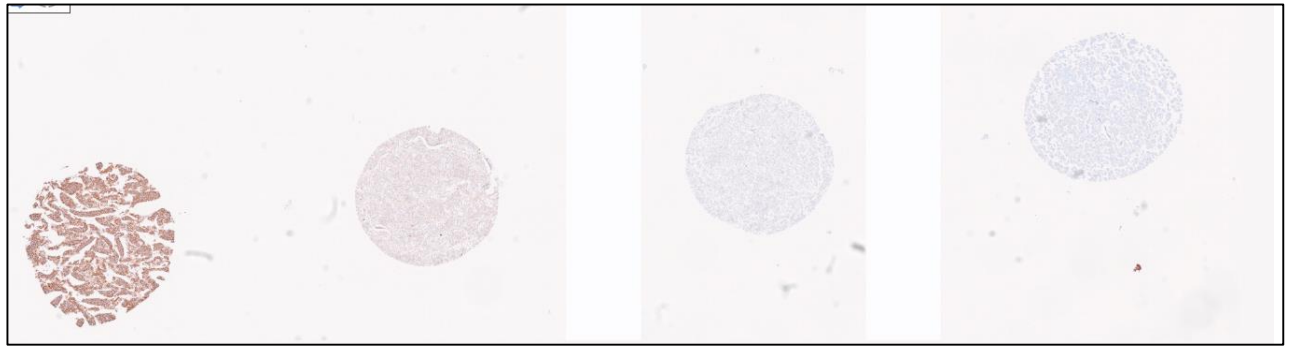




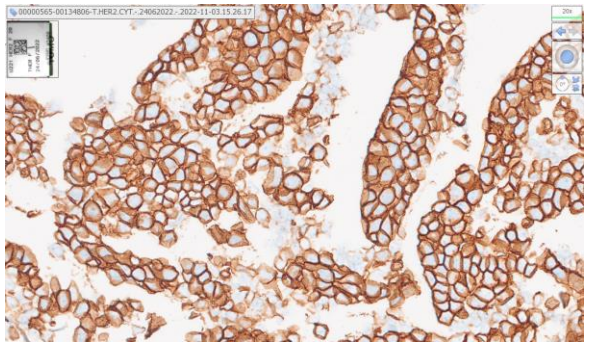
Variation d'intensité mais score 2+ conservé

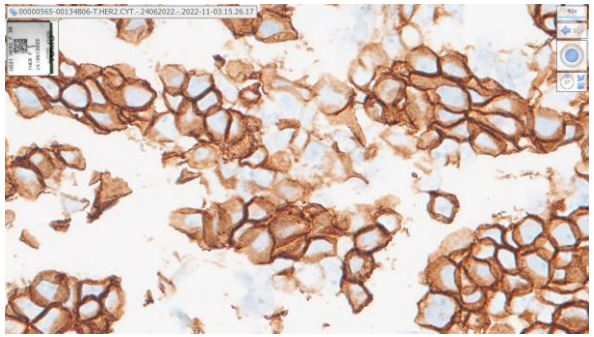
Lignées cellulaires

Histiocyte

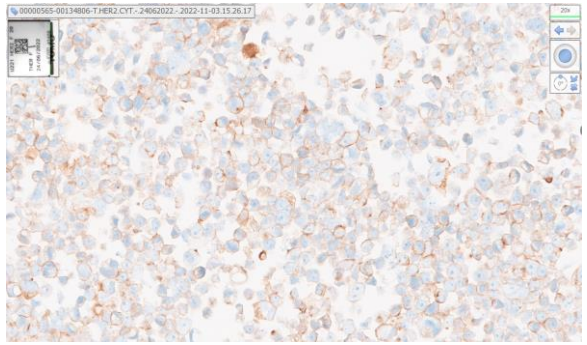


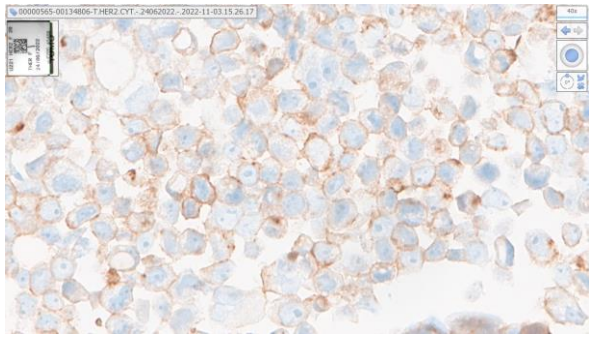
score 3+



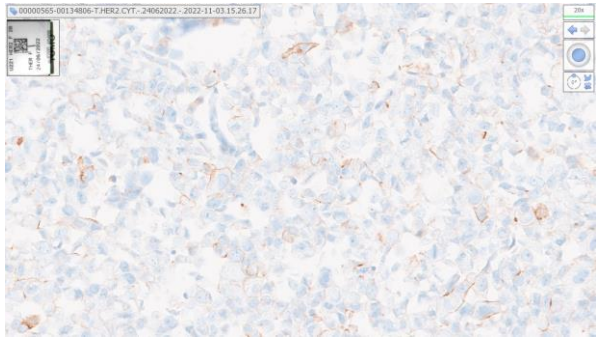


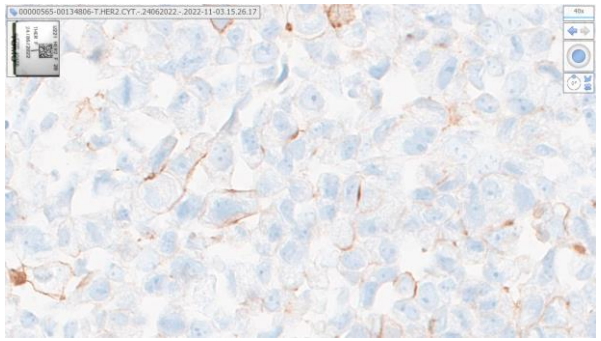
score 2+



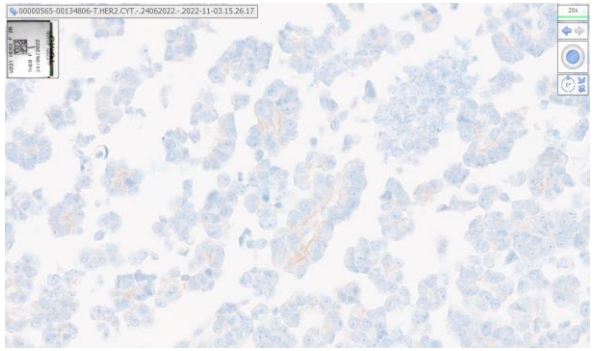


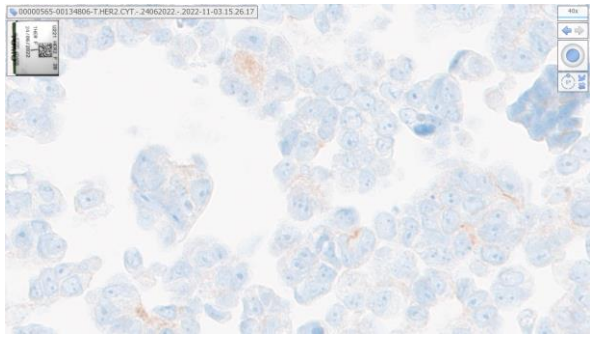
score 1+



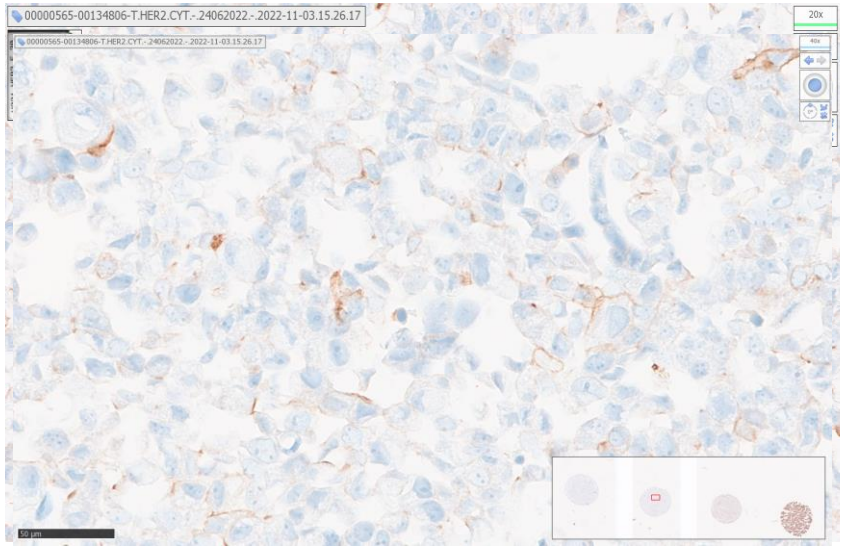


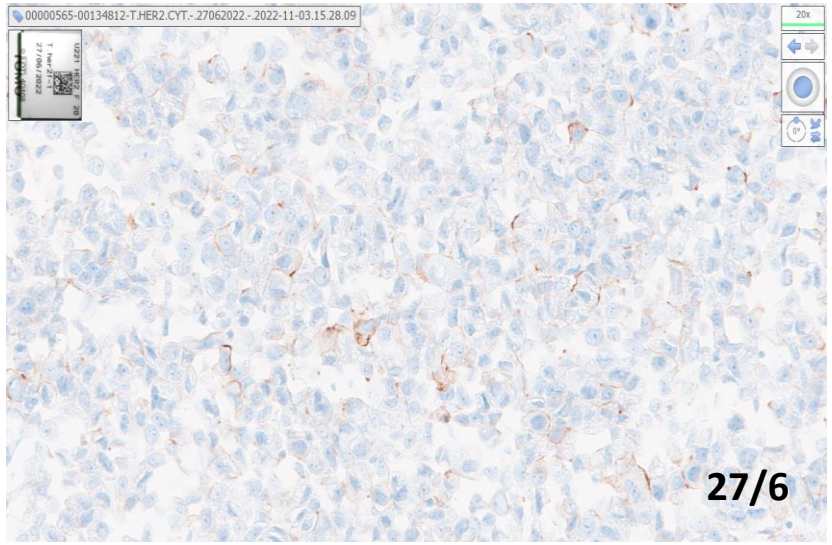
score 0

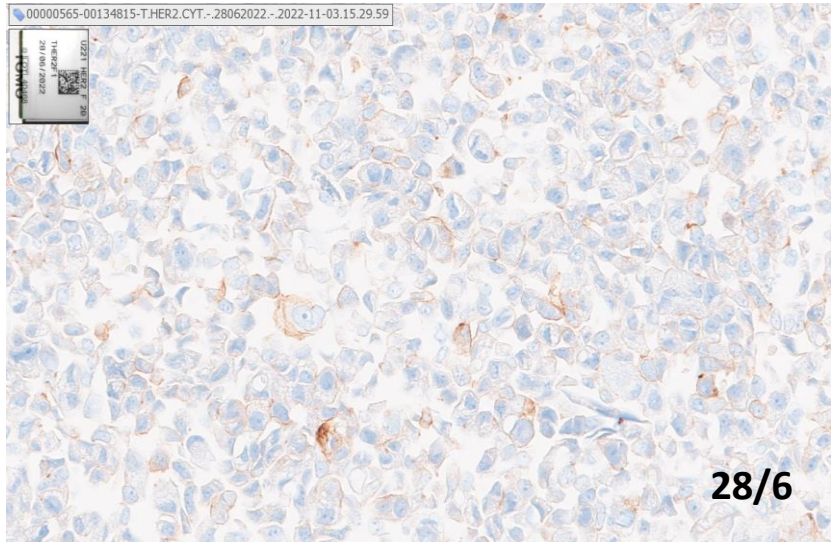


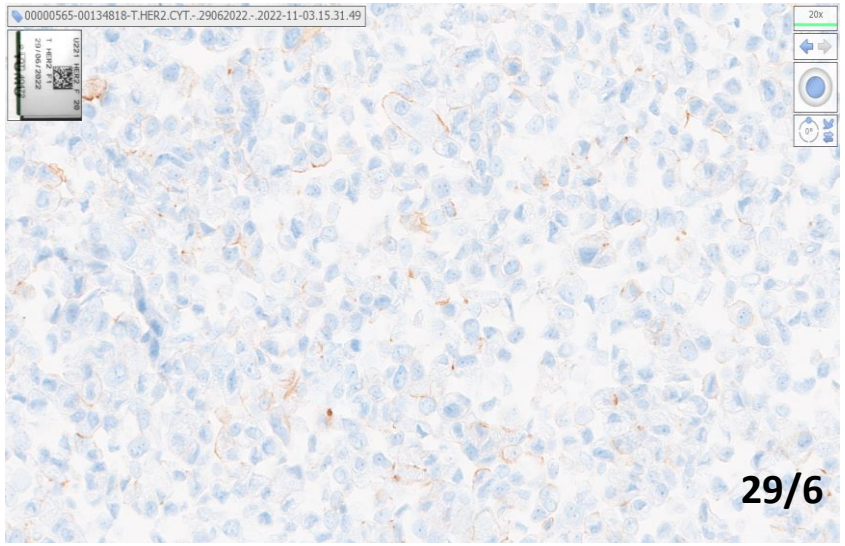


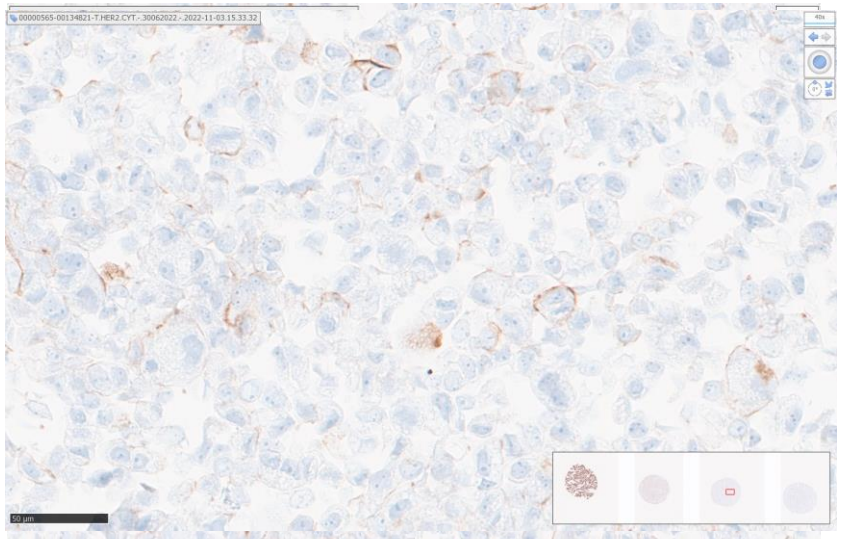
Lignée de score 1+

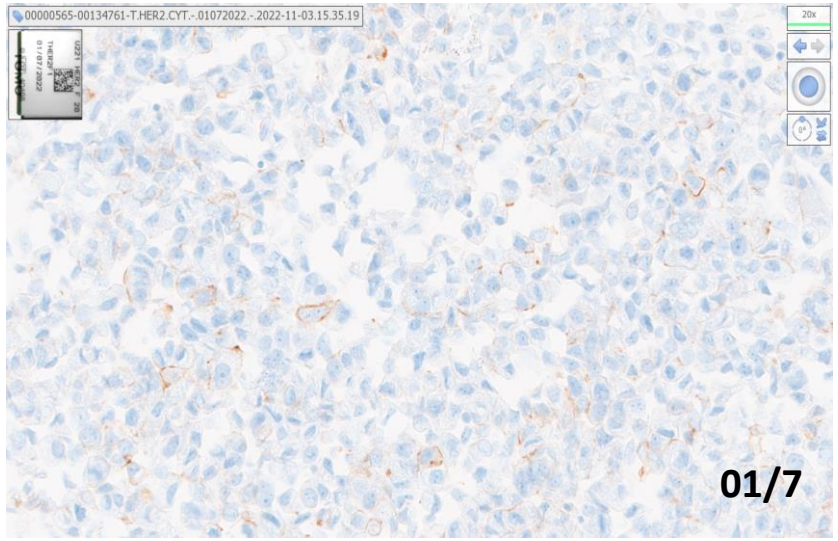






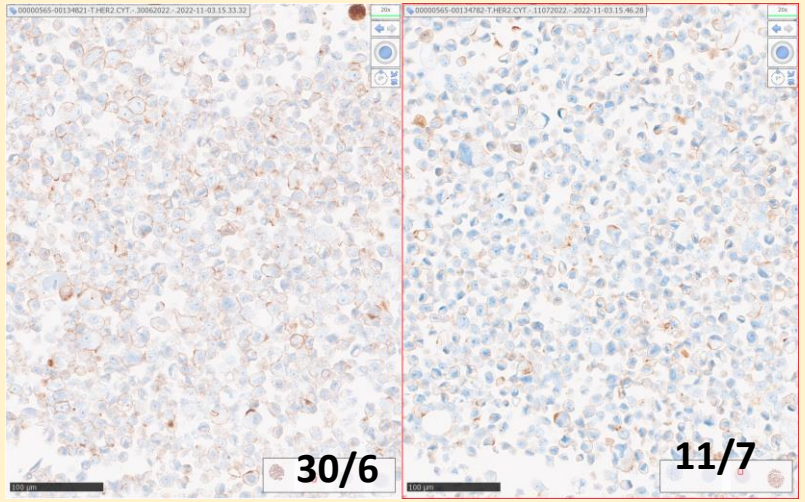


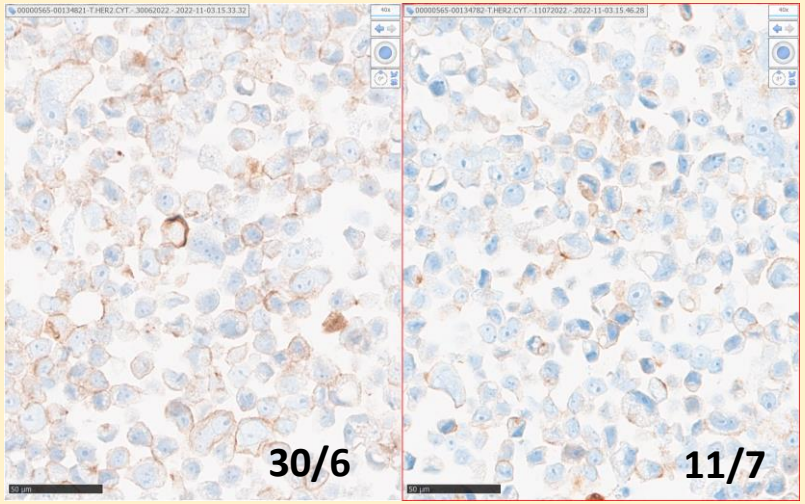




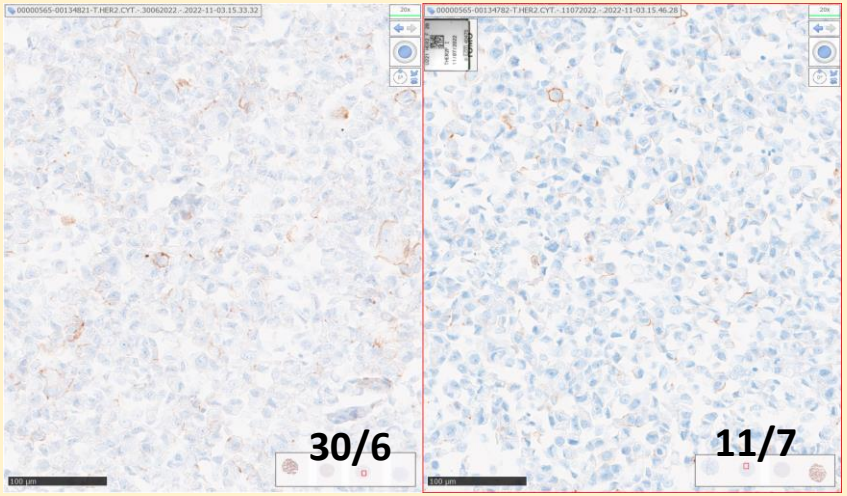
Variation d'intensité mais score 1+ conservé

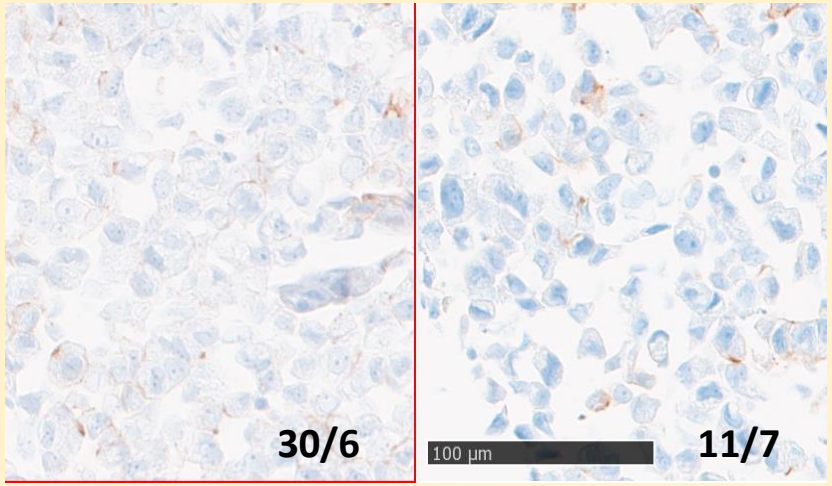
Technique jugée faible le 11/07/2022





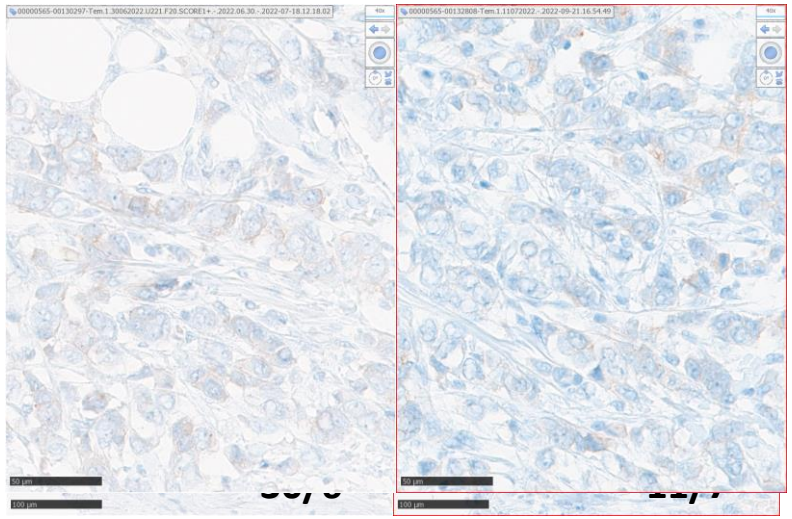
Lignée score 2+



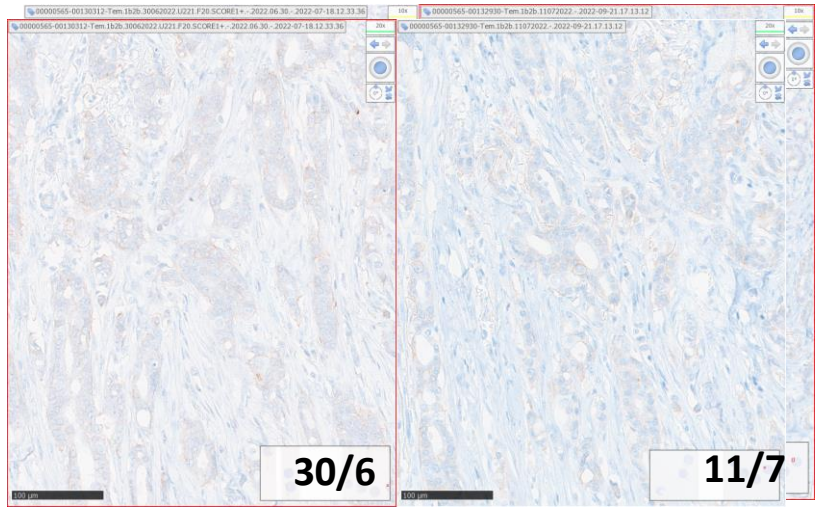


Lignée score 1+

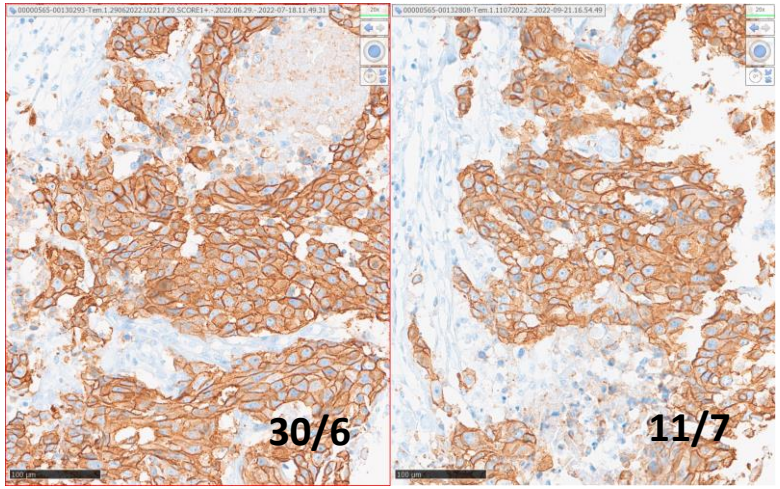
Technique jugée faible le 11/07/2022



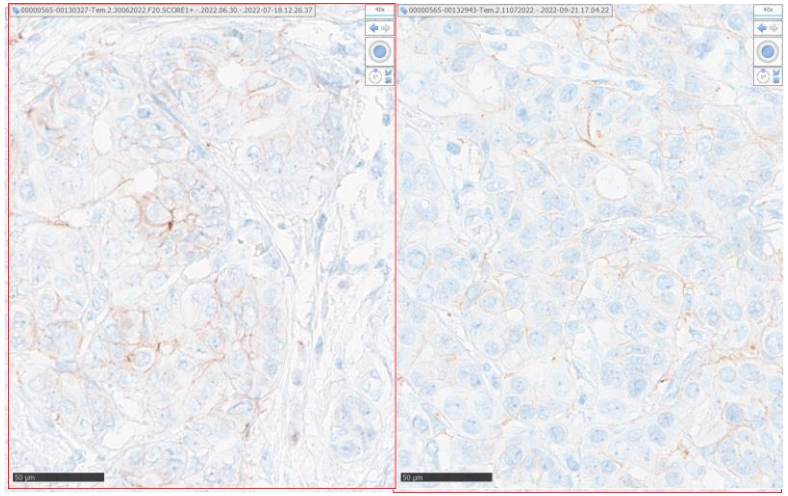
Groupe 1 score1+



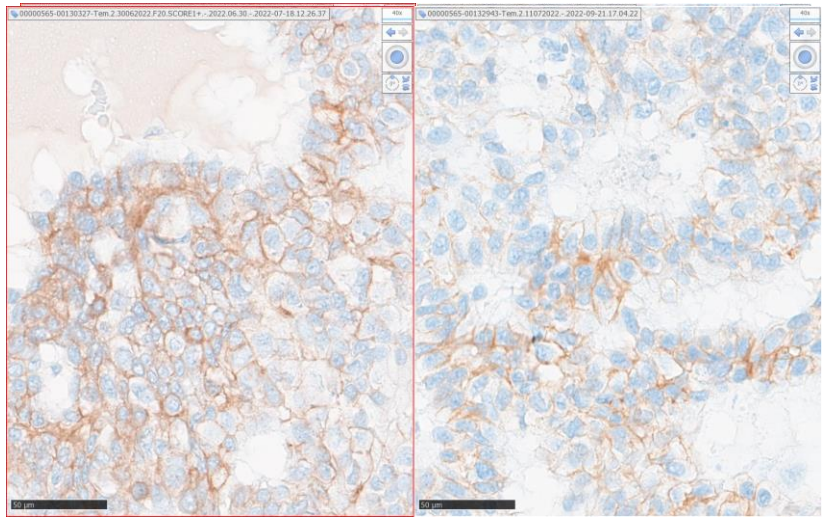
Groupe 2 score1+



Témoin score 3+



Groupe 3 score 1+



Groupe 4 score2+

Score	Groupe			
	1	2	3	4
0 (ultralow)	3	-	-	-
1+	2	5	3	-
2+	-	-	-	2
total	5	5	3	2

Analyse du statut HER2 par FISH

Statut HER2	Groupe IHC 1 score 1+	Groupe IHC 2 score 1+	Groupe IHC 3 score 1+	Groupe IHC 4 score 2+	Total
Disomie	5	3	1	1	10
Monosomie et disomie	-	-	1	-	1
Monosomie	-	-	-	-	-
Gain	-	-	1	1	2
Polysomie	-	2	-	-	2
Total	5	5	3	2	15

Pas de caractéristiques génétiques permettant de sélectionner un témoin HER2-low

Conclusion

- **Technique IHC assez robuste** (mais petites variations entre journées techniques visibles avec le témoin HER2-low et non vues avec le témoin score 3+)
- **Petite série**
- **Choix du témoin?**
  - Tumeur avec marquage homogène, de plus de 50% des cellules, soit faible, soit modéré, partiel associé à faible
  - Lignées (coût++)
- **Validation du témoin 1+ :**
  - Témoin avec marquage faible de plus de 50%des cellules: marquage faible conservé
  - Témoin avec marquage modéré, partiel associé à faible : conservation du marquage modéré

Conclusion

- **Recommandations:**
  - **Un témoin 1+ permet de contrôler la détection des faibles marquages**
    - Contrôle sur chaque lame de score 1+ (en plus du score 3+)
  - **Contrôler régulièrement son pourcentage de score 1+ et 2+ non amplifié**