Recherche de fusions des gènes *NTRK* dans les cancers colorectaux avec instabilité microsatellitaire sans mutations de *RAS* et *BRAF* : l'hybridation *in situ* fluorescente est supérieure à l'immunohistochimie pan-TRK

BOCCIARELLI CLAIRE

AHU CHRU BREST

C. BOCCIARELLI, L. SAMAISON, C. CAUMONT, M. CARIOU, E. MAGRO, A. ALINE-FARDIN, L. DOUCET, J. ROUDIE, B. TERRIS, J.P. MERLIO, P. MARCORELLES, D. CAPPELLEN, A. UGUEN.

Introduction

2ième cause de cancer chez la femme et 3ième chez l'homme

Maladie hétérogène: nombreuses mutations

Mutation gène de fusion:

- Rare: < 1 %
- Cocco et al. (2019): 0,9% des CCR sur 2314
  - Profil :
    - MLH1 –
    - *BRAF/KRAS/NRAS* WT

Introduction

2ième cause de cancer chez la femme et 3ième chez l'homme

Maladie hétérogène: nombreuses mutations

Mutation gène de fusion:

- Rare: < 1 %
- Cocco et al. (2019): 0,9% des CCR sur 2314
  - Profil :
    - MLH1 –
    - *BRAF/KRAS/NRAS* WT

NTRK 1 – 2 – 3:

- Thérapies ciblées
- Patient avec un stade localement avancé

Outils de diagnostic:

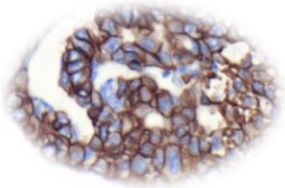
- NGS (RNA-seq)
- FISH
- PCR
- IHC

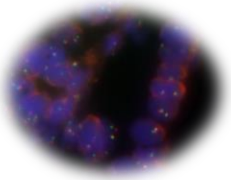
Objectif

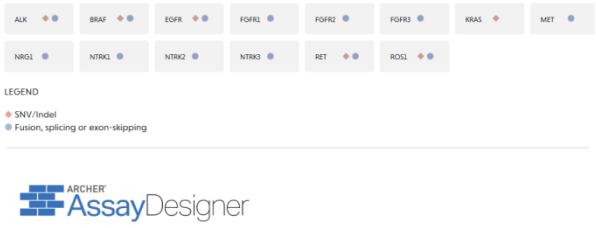
- Tester la faisabilité technique
- De la détection des fusions de gènes *NTRK* dans les CCRs
  - MLH1 –

➢ IHC, FISH , PCR (système Idylla)

➢ Comparer au RNA-seq







Matériels et méthodes

Cas étudiés:

- Janvier 2015 et mai 2019
- Perte d'expression de MLH1

Étape n°1

Cancer du colon MSI

Test *BRAF/KRAS/NRAS* et statut MSS/MSI
Idylla™ Copeaux de paraffine 10 µm

(analyses Laura Samaison, Ouest pathologie)

IHC (immunohistochimie)
PAN-TRK (clone EPR17341 et A7H6R)

Matériels et méthodes

Cas étudiés:

- Janvier 2015 et mai 2019
- Perte d'expression de MLH1

Étape n°1

Cancer du colon MSI

Test *BRAF/KRAS/NRAS* et statut MSS/MSI
Idylla™ Copeaux de paraffine 10 µm
(analyses Laura Samaison, Ouest pathologie)

IHC (immunohistochimie)
PAN-TRK (clone EPR17341 et A7H6R)

Étape n°2

Cancer du colon MSI ***BRAF/KRAS/NRAS WT***

FISH (fluorescence par hybridation *in situ*)
NTRK 1 - 2 – 3 (sonde Zytovision)

RNA-seq *NTRK 1 - 2 – 3 (Archer® FusionPlex® Lung panel)*
(analyses Charline Caumont, David Cappellen & Jean-Philippe Merlio, CHU de Bordeaux)

Résultats

N = 84
Cancer du colon MSI

N = 19 22,6 %
Cancer du colon MSI
BRAF/KRAS/NRAS WT

Immunohistochemistry		FISH: probe with >15% positive nuclei	RNA-sequencing
Pan-TRK EPR 17341	Pan-TRK A7H6R		
2+ (70%)	2+ (100%)	*NTRK1* (80%)	*PLEKHA6-NTRK1(P21:N10)*
2+ (100%)	2+ (100%)	*NTRK1* (70%)	*TPR-NTRK1 (T21:N10)*
3+ (100)	3+ (100%)	*NTRK1* (80%)	*LMNA-NTRK1 (L4:N11)*
1+ (100%)	1+ (100%)	*NTRK1* (60%)	*En cours d'analyse*
3 + (100%)	3+ (100%)	*NTRK1* (90%)	*LMNA-NTRK1 (L12:N12)*
0	0	*NTRK3* (95%)	*KANK1-NTRK3 (K3:N14)*
0	0	*NTRK3* (100%)	*ETV6-NTRK3 (E5:N15)*
0	0	*NTRK3* (95%)	*ETV6-NTRK3 (E5:N15)*

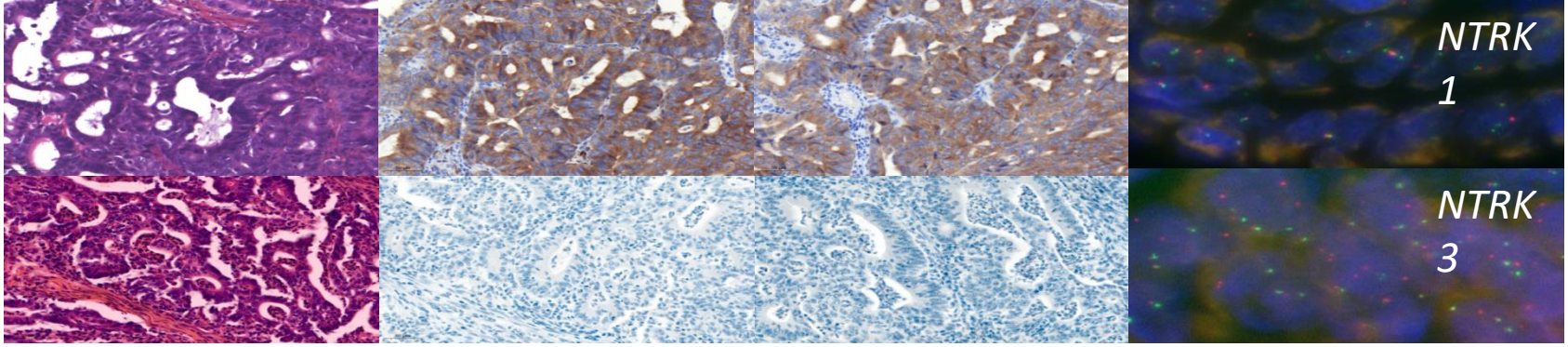
N = 8 42,1 %

FISH (fluorescence par hybridation *in situ*)
NTRK 1 - 2 – 3 (sonde Zytovision)

N = 8 42,1 %

RNA-seq *NTRK 1 - 2 – 3 (Archer® FusionPlex® Lung panel)*
(analyses Charline Caumont, David Cappellen & Jean-Philippe Merlio, CHU de Bordeaux)

62,5% (n = 5) réarrangements du gène *NTRK 1*
37,5% (n = 3) réarrangements du gène *NTRK 3*



N = 19 22,6 %

Cancer du colon MSI *BRAF/KRAS/NRAS WT*

Immunohistochemistry		FISH: probe with >15% pos nuclei
Pan-TRK EPR 17341	Pan-TRK A7H6R	
2+ (70%)	2+ (100%)	*NTRK1* (80%)
2+ (100%)	2+ (100%)	*NTRK1* (70%)
3+ (100)	3+ (100%)	*NTRK1* (80%)
1+ (100%)	1+ (100%)	*NTRK1* (60%)
3 + (100%)	3+ (100%)	*NTRK1* (90%)
0	0	*NTRK3* (95%)
0	0	*NTRK3* (100%)
0	0	*NTRK3* (95%)

N = 5

IHC (immunohistochimie)
PAN-TRK (clone EPR17341 et A7H6R)

N = 8 42,1 %

FISH (fluorescence par hybridation *in situ*)
NTRK 1 - 2 – 3 (sonde Zytovision)

N = 8 42,1 %

RNA-seq *NTRK 1 - 2 – 3 (Archer® FusionPlex® Lung panel)*
(analyses Charline Caumont, David Cappellen & Jean-Philippe Merlio, CHU de Bordeaux)

62,5% (n = 5) réarrangements du gène *NTRK 1*
37,5% (n = 3) réarrangements du gène *NTRK 3*

Conclusion

- Etude de prévalence:
  - **42 % de gènes de fusion *NTRK*** dans les cancer du colon MSI *BRAS/NRAS/KRAS* WT

➢ ***Un testing moléculaire (FISH/RNA-seq) semble être plus pertinent que l'IHC pan-TRK pour identifier les cancers colorectaux avec fusions des gènes NTRK***

➢ ***Besoin d'une amélioration de la sensibilité de l'IHC pan-TRK pour le réarrangement NTRK3***