

*Enseignement 2011-2012*

# Introduction à la pathologie moléculaire

Paul Hofman

[hofman.p@chu-nice.fr](mailto:hofman.p@chu-nice.fr)

## Inserm

Institut national  
de la santé et de la recherche médicale



Laboratoire de Pathologie Clinique et Expérimentale  
Centre Hospitalo-Universitaire de Nice  
Université de Nice Sophia Antipolis



# Plan du cours

- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- Les buts de la pathologie moléculaire
- Exemple pour le diagnostic
- Exemple pour le pronostic
- Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples
- Programme des cours en pathologie moléculaire

# Plan du cours

- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- Les buts de la pathologie moléculaire
- Exemple pour le diagnostic
- Exemple pour le pronostic
- Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples
- Programme des cours en pathologie moléculaire

- L'anatomie pathologique
- La pathologie
- La biopathologie
- La pathologie morphologique et la pathologie moléculaire

# L'anatomie pathologique

Le rôle de la macroscopie et le  
début des observations au  
microscope

G. ROUSSY  
—  
ANATOMIE  
PATHOLOGIQUE

II

G. ROUSSY  
—  
ANATOMIE  
PATHOLOGIQUE

I



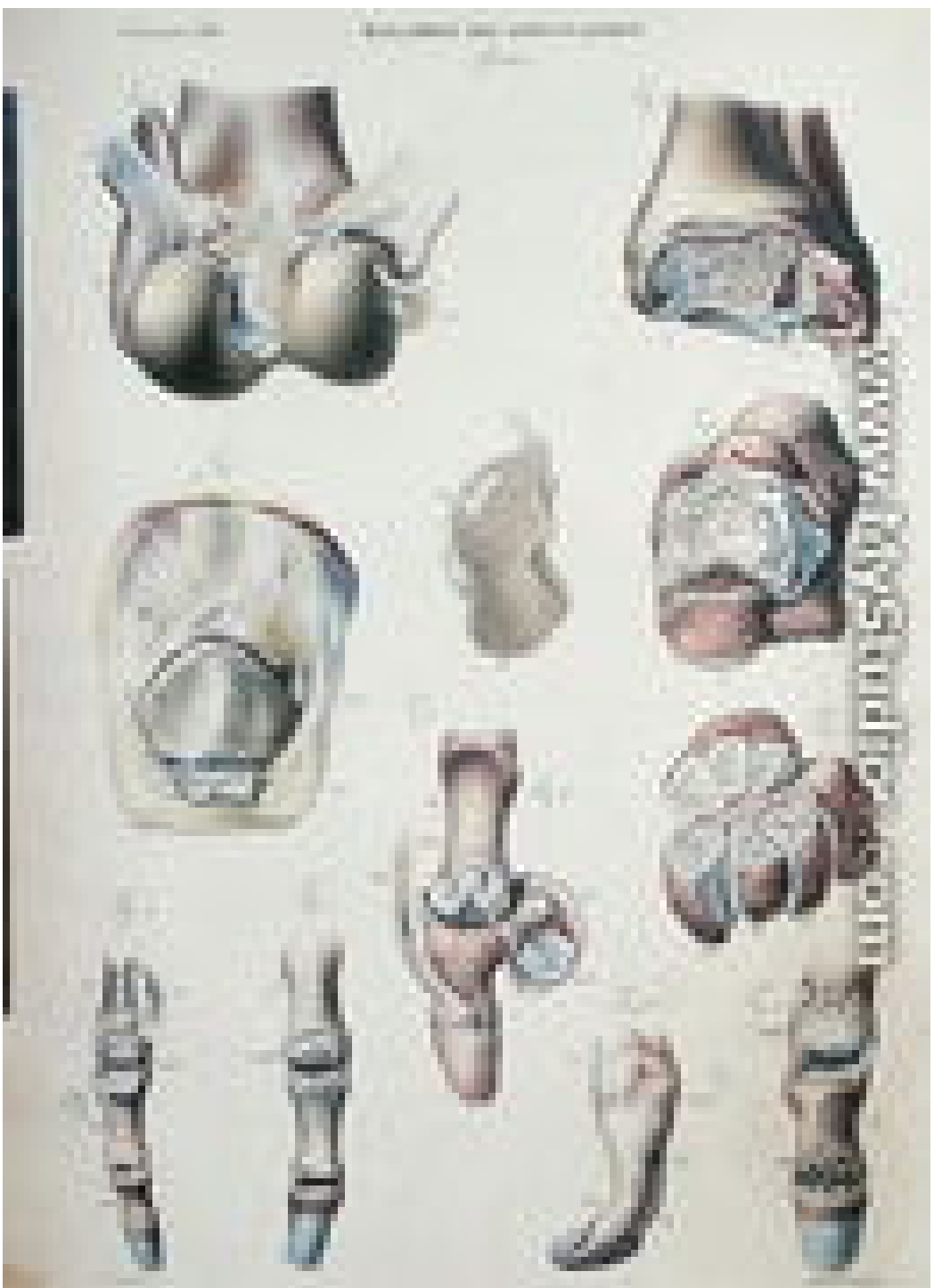
**R Virchows**

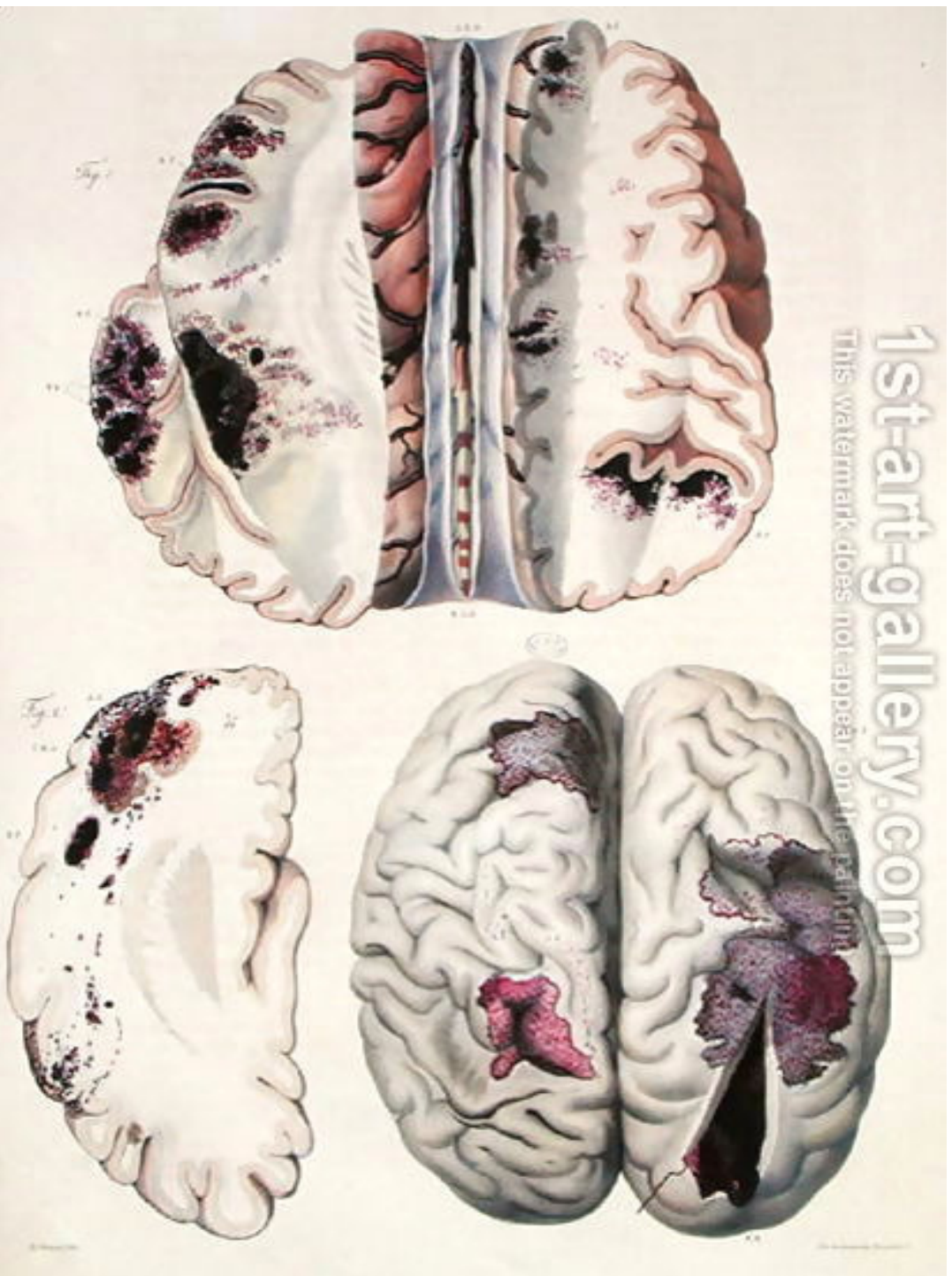












1st-art-gallery.com

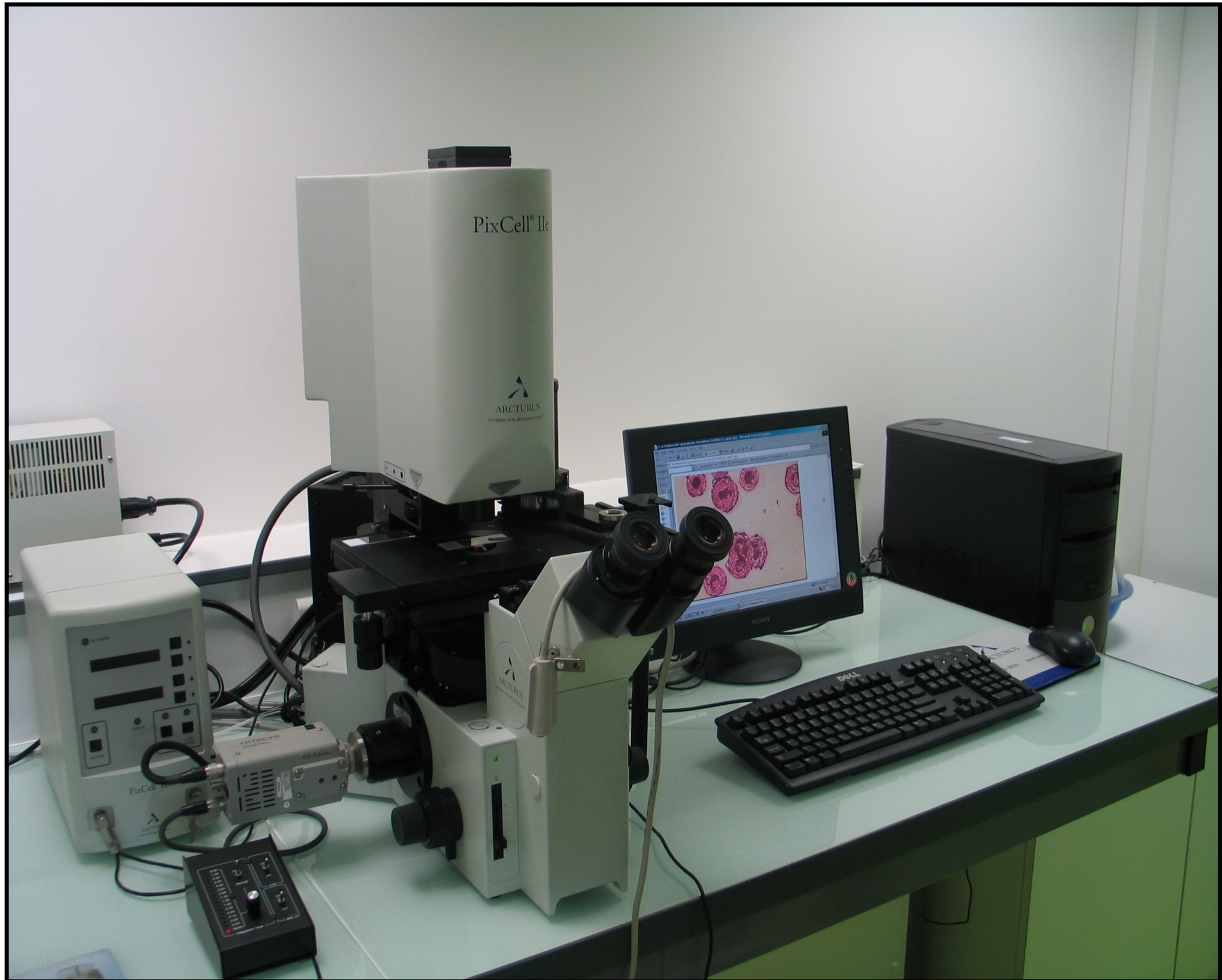
This watermark does not appear on the print.

# Les premières observations...





Une évolution progressive  
vers la pathologie moderne...







Contrôle de la traçabilité



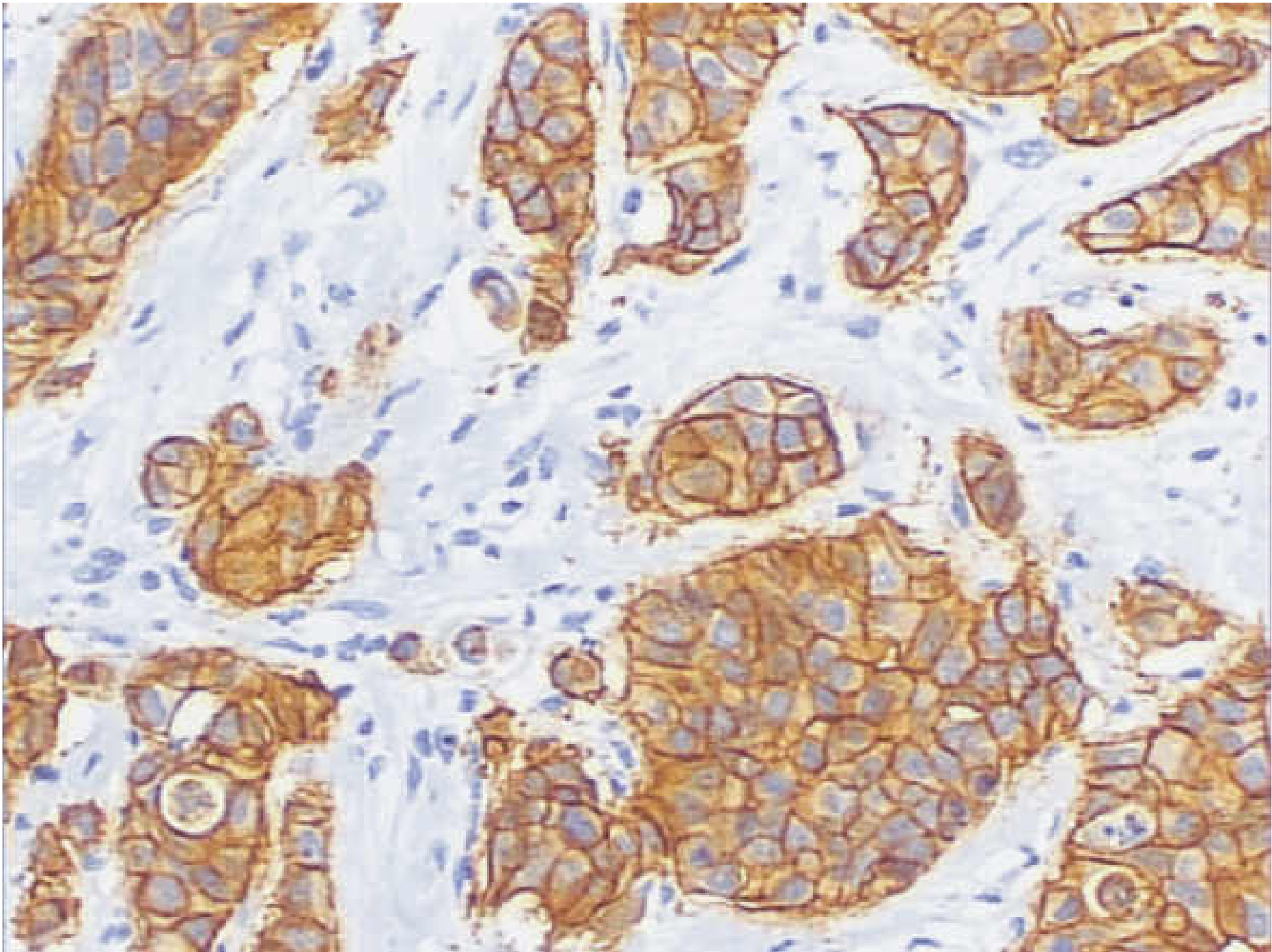
**Contrôle de la traçabilité  
Evaluation d'un système par RFID**







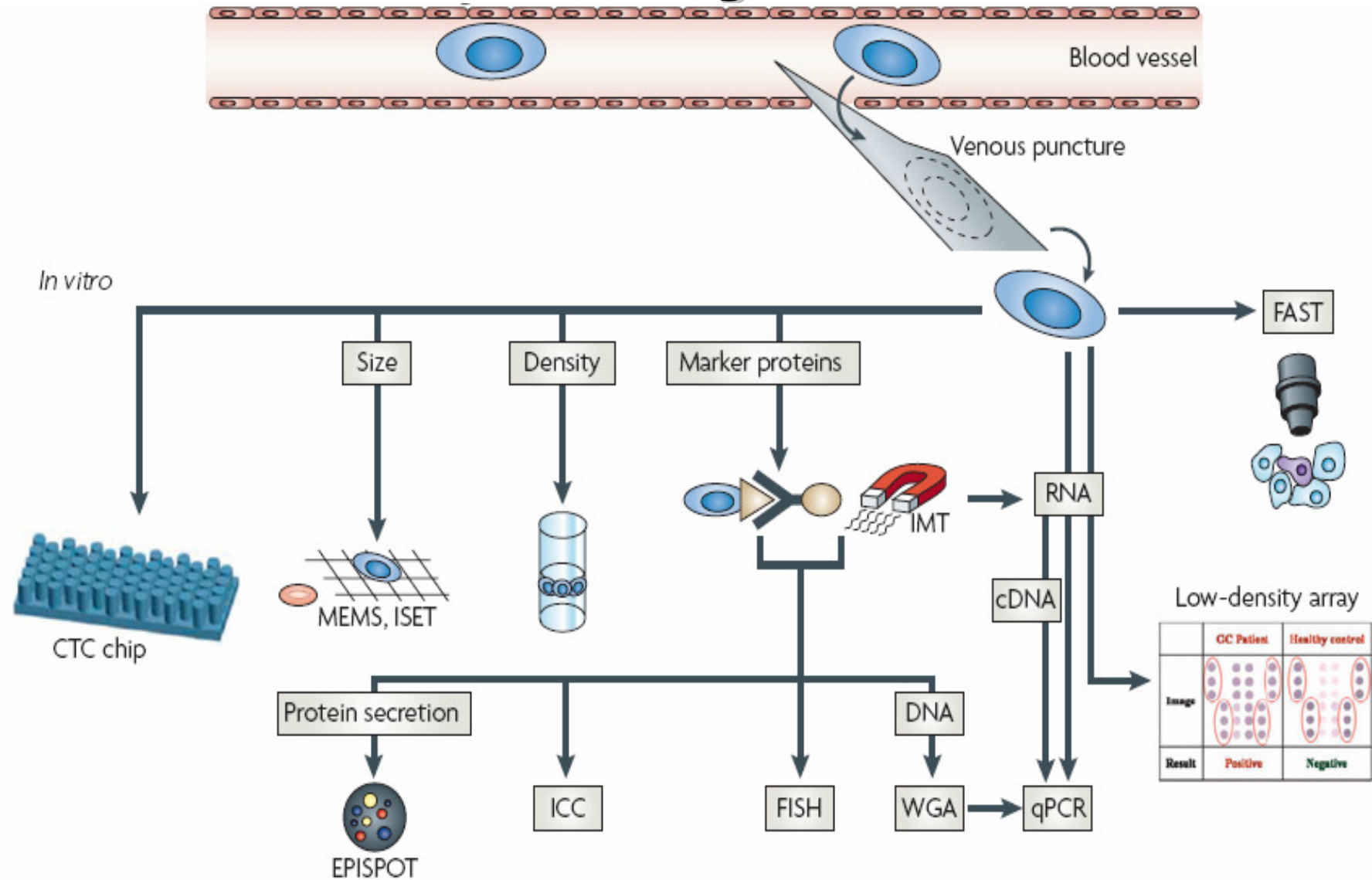
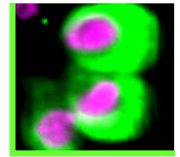
Plateau technique d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ*



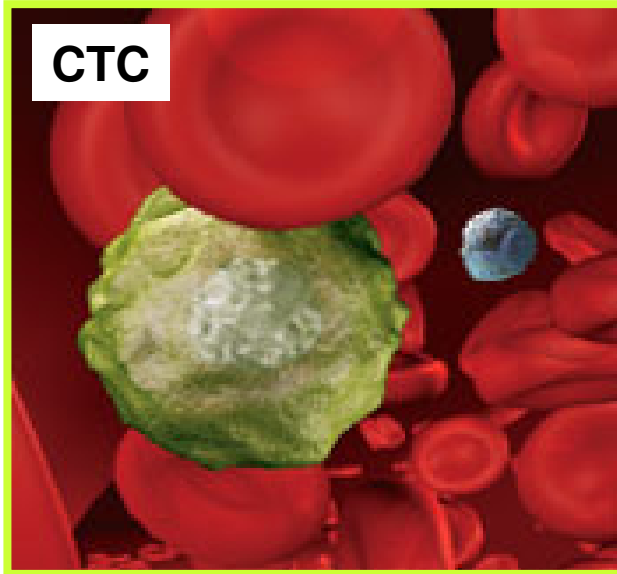
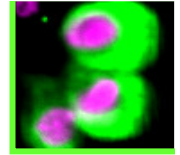
Vers une nouvelle évolution  
et une nouvelle spécialité

La biopathologie

# Detection des "CTC": différentes méthodologies



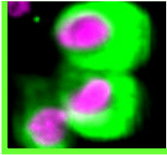
# L'exemple d'une méthode indirecte



La technique CellSearch



# CellSearch™ System



CellSearch™ Reagents



CellTracks® AutoPrep System



Magnest®



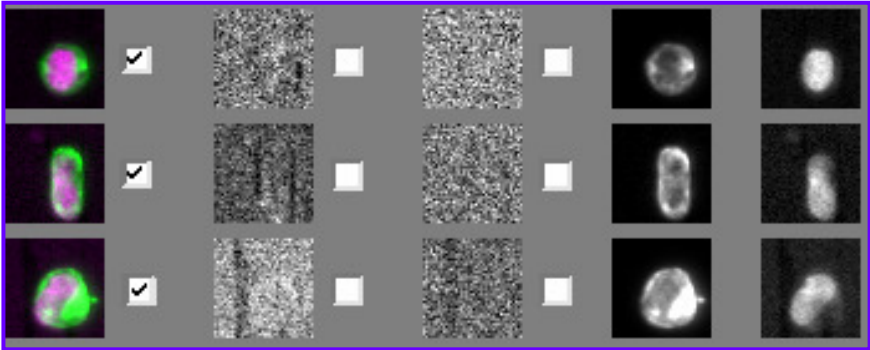
CellSave® Tube



CellTracks® Analyzer II



WBC Control CK DAPI



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

# Circulating Tumor Cells, Disease Progression, and Survival in Metastatic Breast Cancer

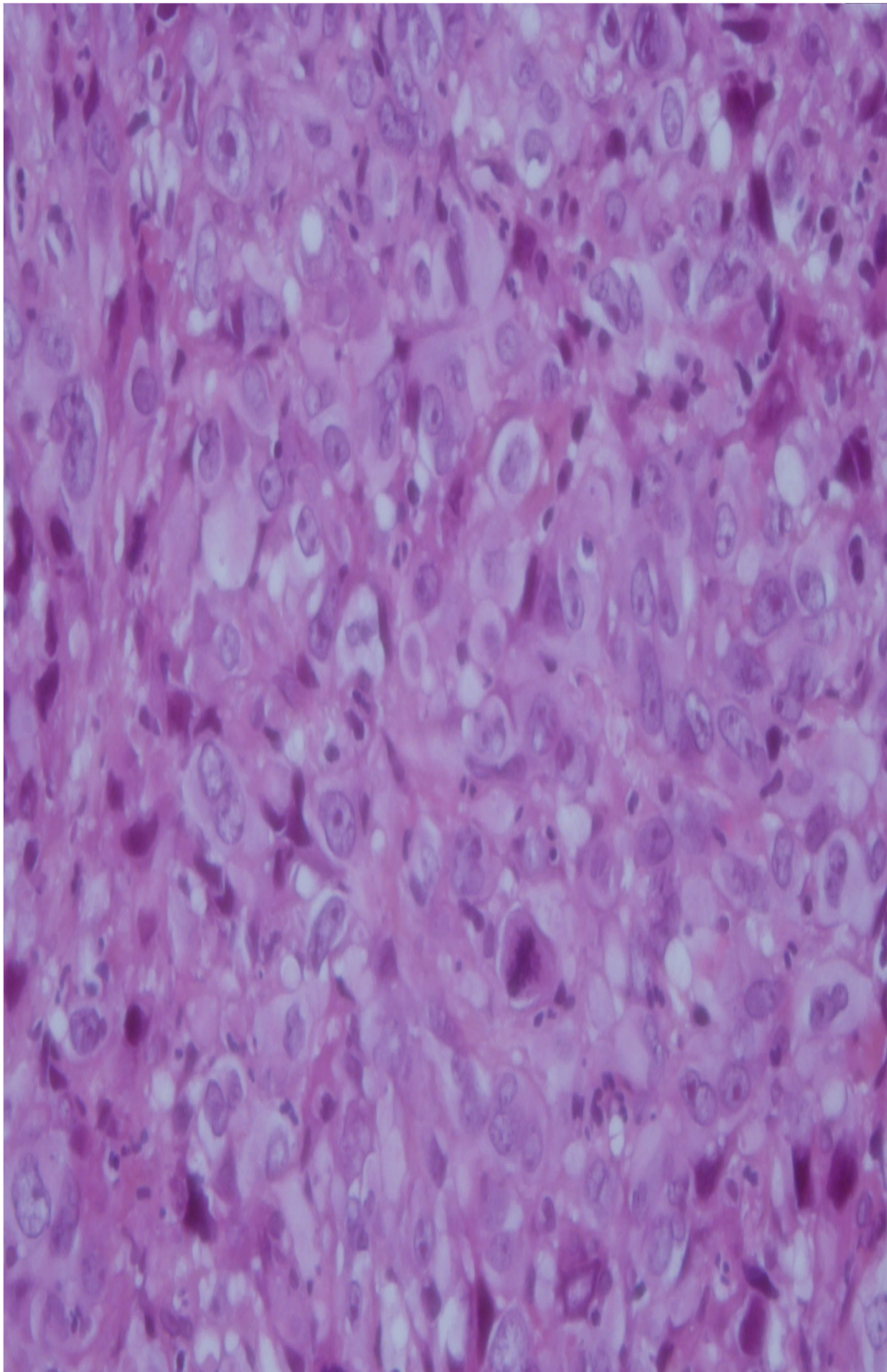
Massimo Cristofanilli, M.D., G. Thomas Budd, M.D., Matthew J. Ellis, M.B., Ph.D.,  
Alison Stopeck, M.D., Jeri Matera, B.S., R.Ph., M. Craig Miller, B.S.,  
James M. Reuben, Ph.D., Gerald V. Doyle, D.D.S., W. Jeffrey Allard, Ph.D.,  
Leon W.M.M. Terstappen, M.D., Ph.D., and Daniel F. Hayes, M.D.

N Engl J Med 2004;351:781-91.

Copyright © 2004 Massachusetts Medical Society.

Une nouvelle ère

La pathologie morphologique  
et la pathologie moléculaire



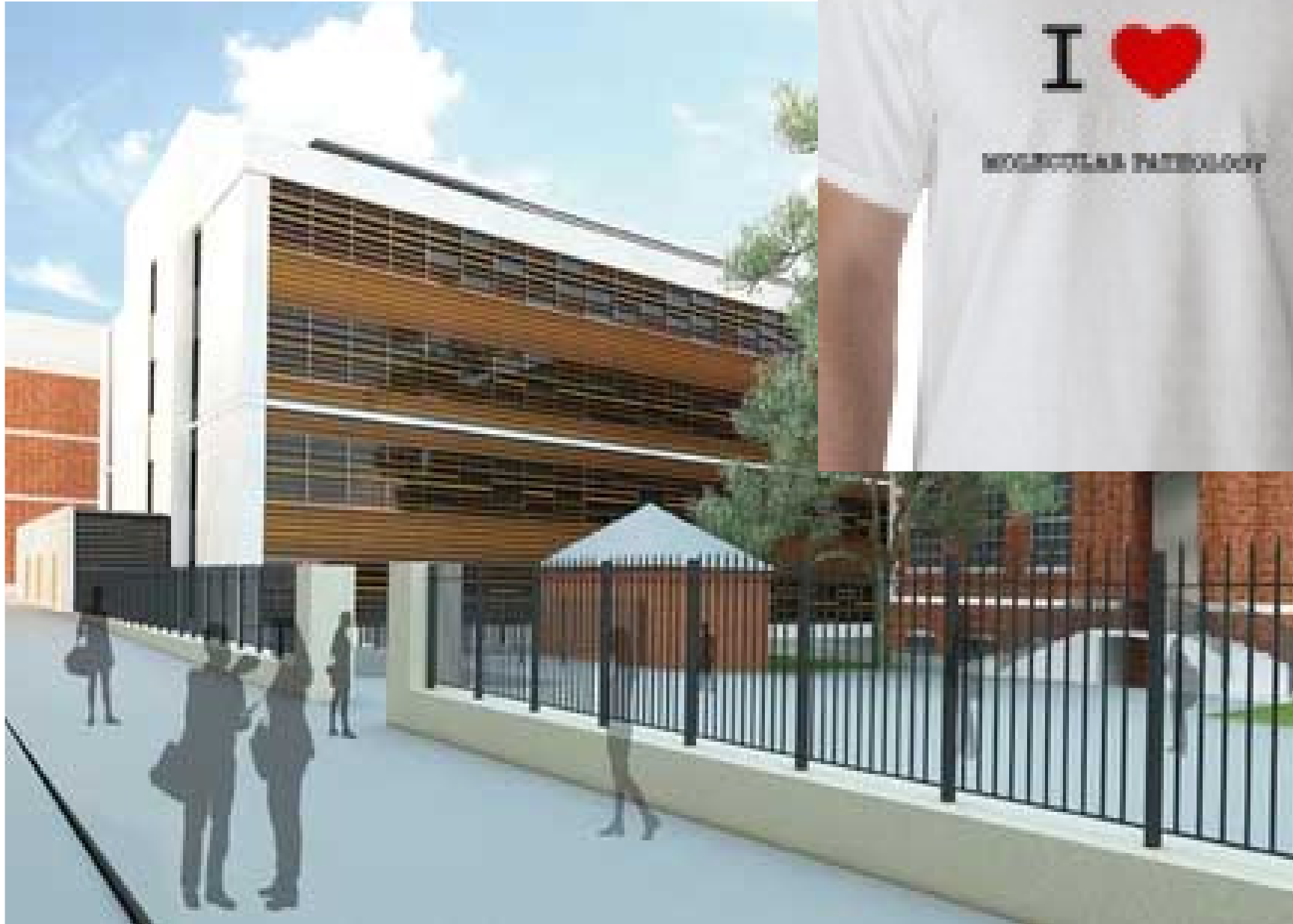
La pathologie moléculaire

Molecular Pathology  
in Clinical Practice:  
Oncology



 Springer

# Université d'oxford



METHODS IN MOLECULAR MEDICINE™

# Molecular Pathology Protocols

Edited by  
Anthony A. Killeen

© Humana Press

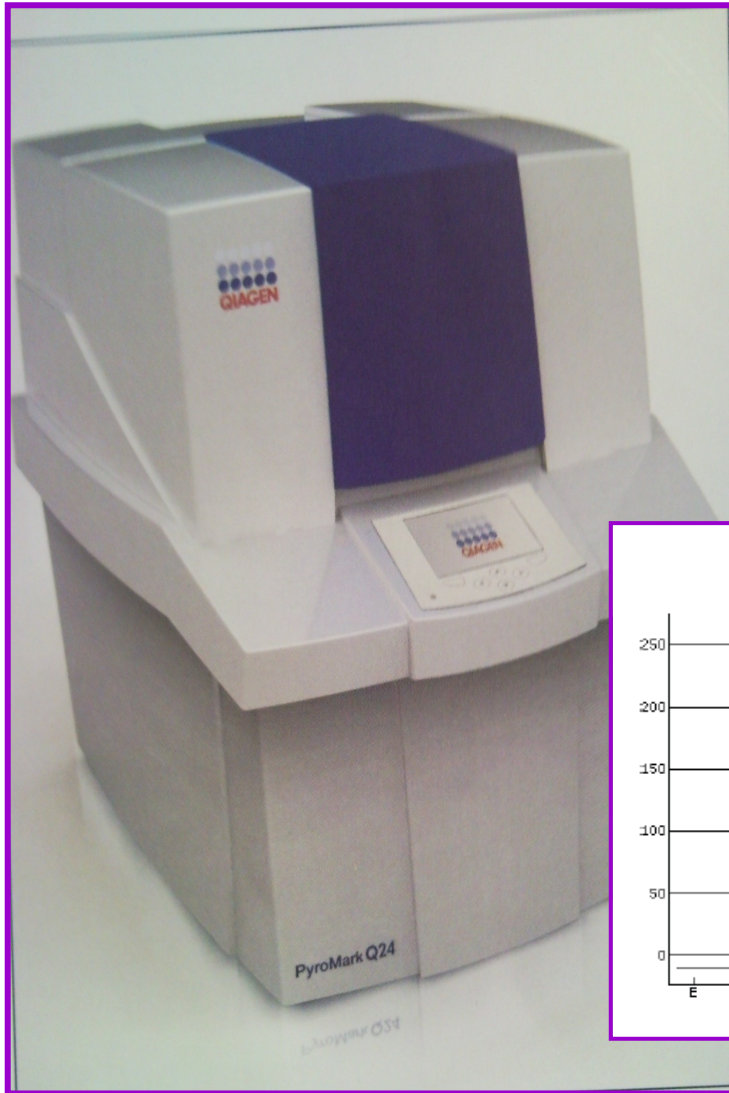
# Quelles techniques ?

- Recherche d'altérations génétiques
- Séquençage, pyroséquençage, PCR mutiplexe, Snapshot, technique FISH
  - Mutations ponctuelles
  - Réarrangements chromosomiques



**Plateau technique de biologie moléculaire**

# Pyroséquençage



Augmentation potentielle de la sensibilité

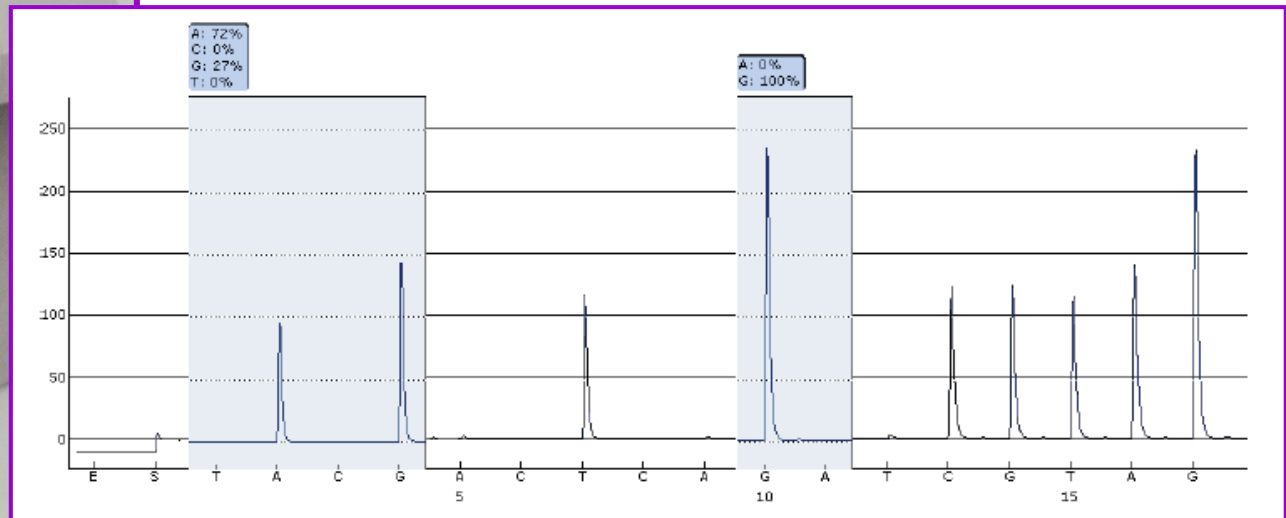
Détection des mutations de KRAS, BRAF, EGFR

Détection de nouvelles mutations

Assay: KRAS CODONS 12-13

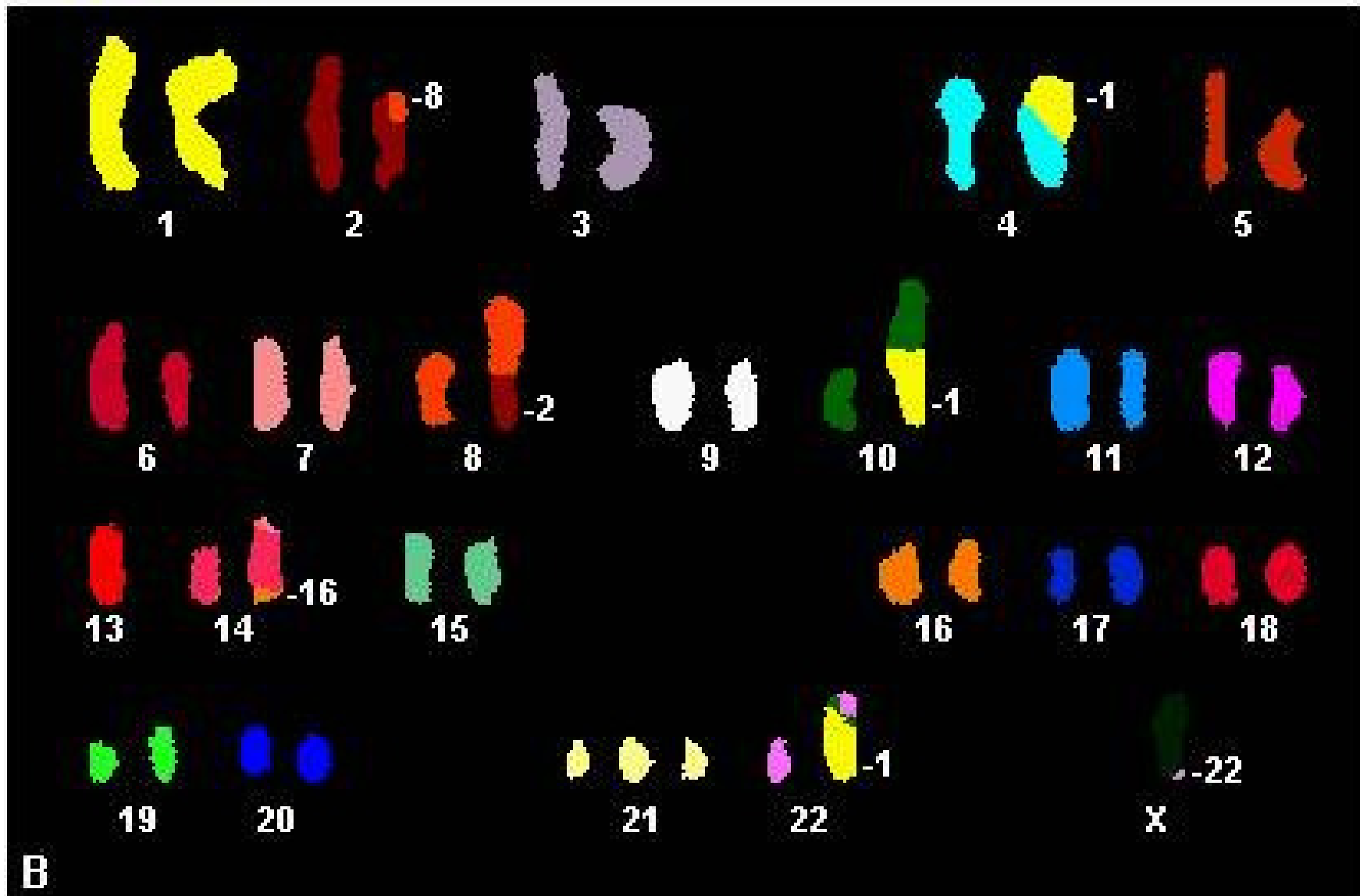
Sample ID: LB09-137 Kras 12-13 *LPCE*

Result : mutated GGT>AGT

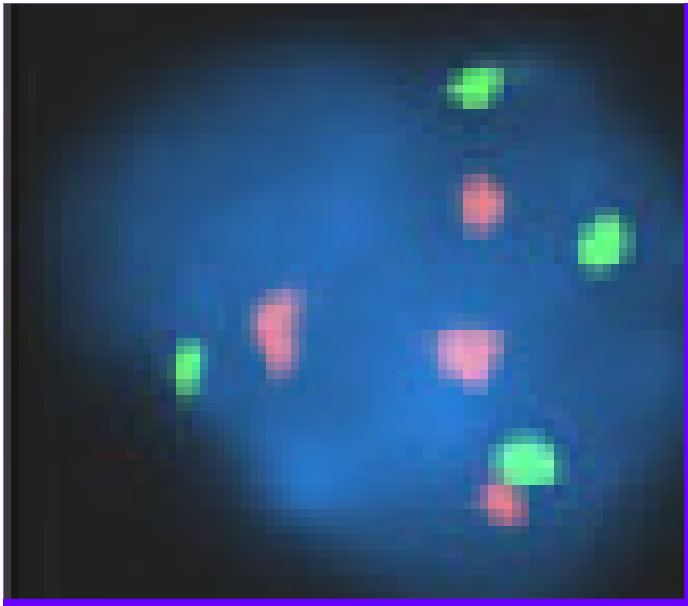


# Extraction d'acides nucléiques et contrôle de qualité

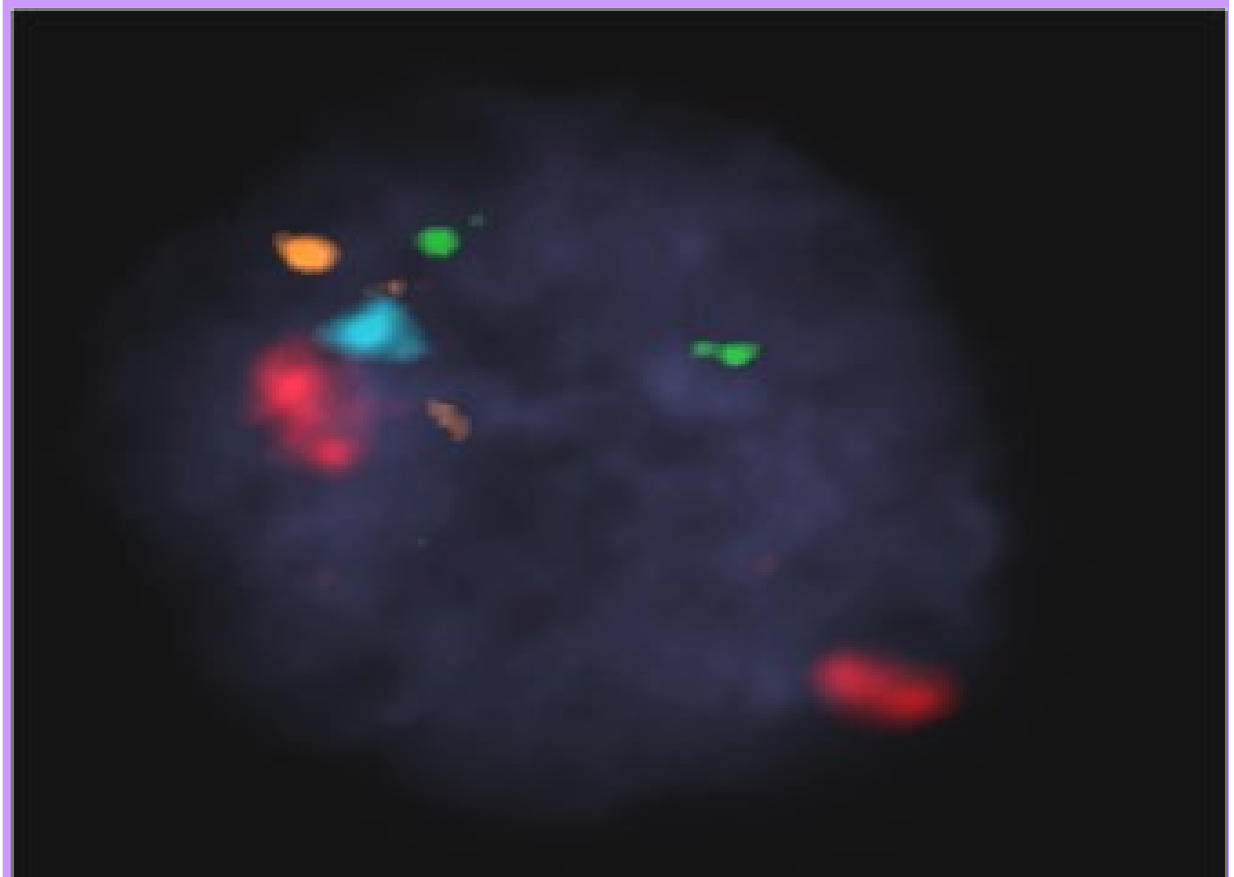




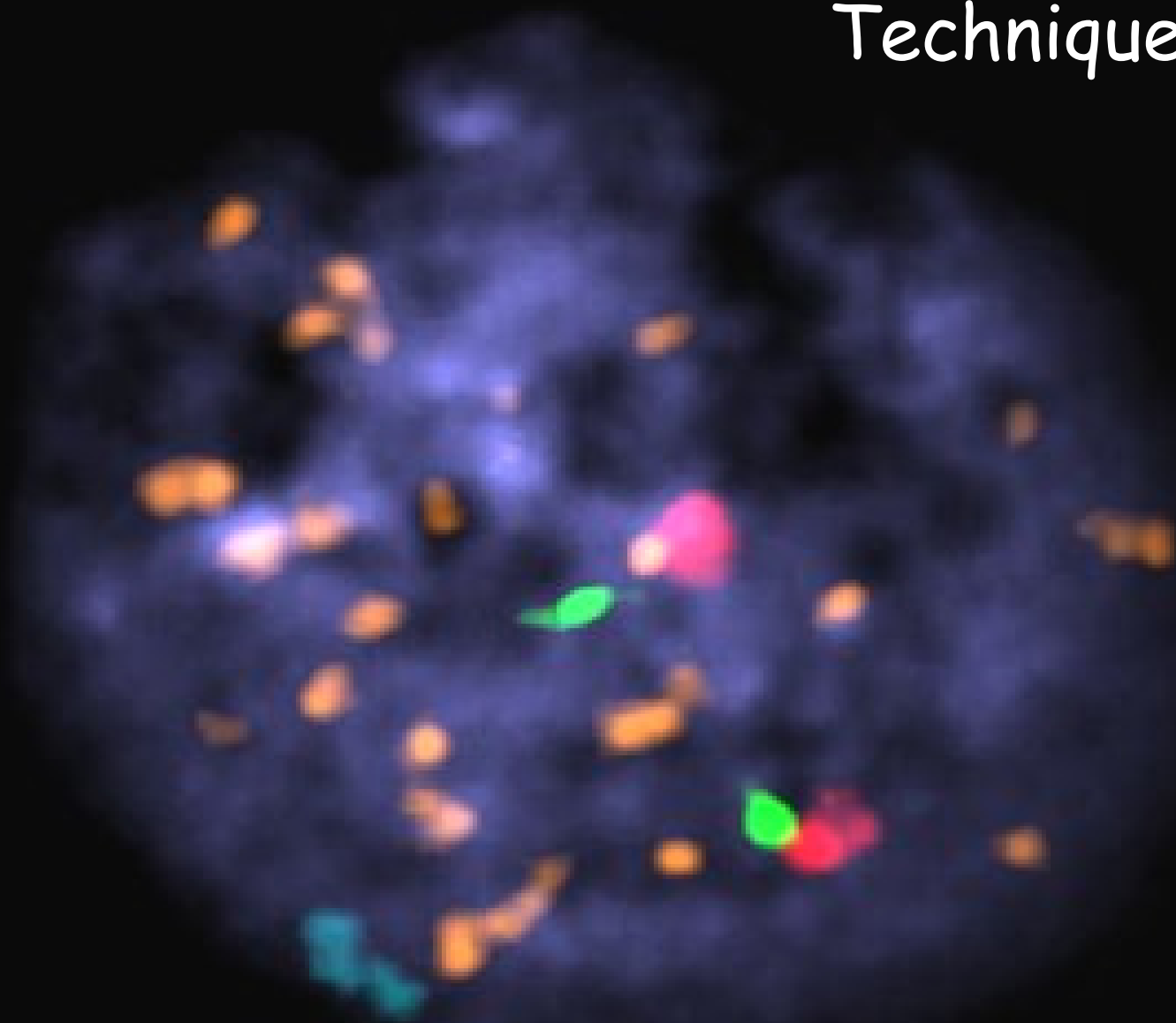
Caryotype tumoral



## Technique FISH



# Technique FISH



# Plan du cours

- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- **Les buts de la pathologie moléculaire**
- Exemple pour le diagnostic
- Exemple pour le pronostic
- Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples
- Programme des cours en pathologie moléculaire

# Les buts de la pathologie moléculaire

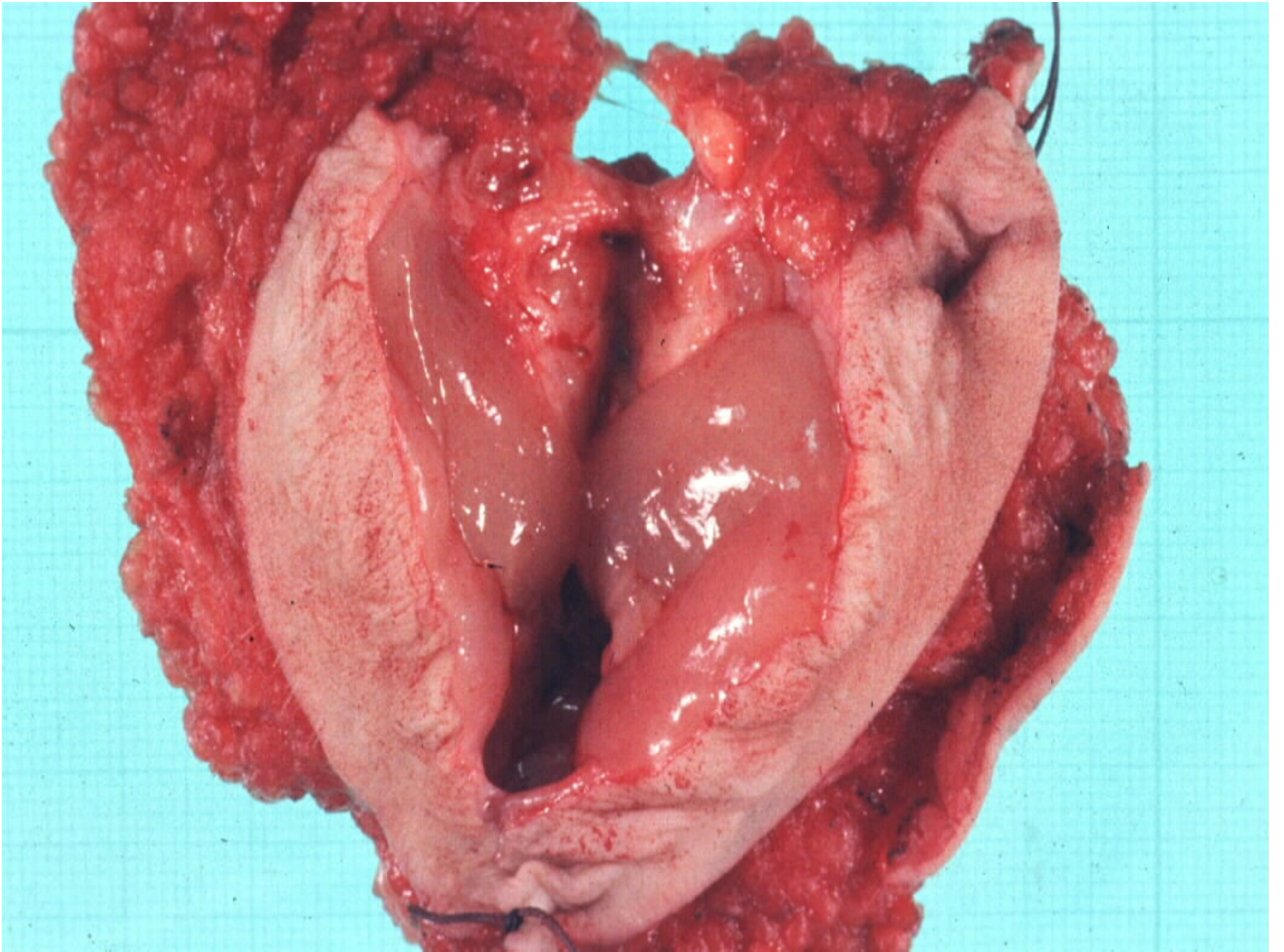
- Amélioration du diagnostic
- Evaluation du pronostic
- Prédiction de la réponse à des traitements ciblés sur des altérations moléculaires (approche « théranostique »)

# Plan du cours

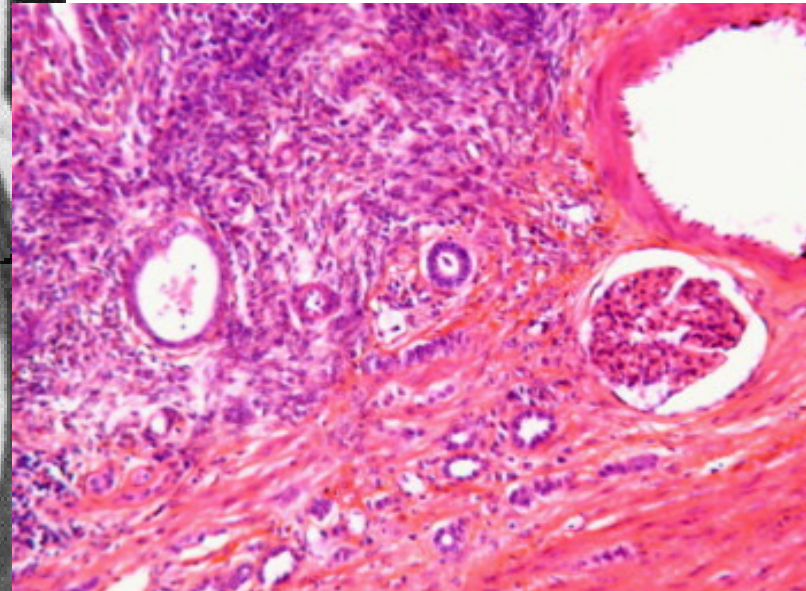
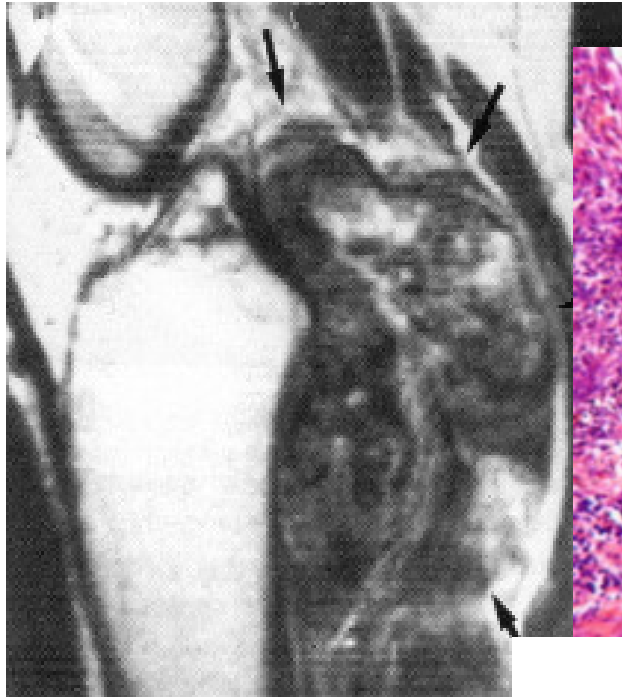
- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- Les buts de la pathologie moléculaire
- **Exemple pour le diagnostic**
- Exemple pour le pronostic
- Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples
- Programme des cours en pathologie moléculaire

# L'exemple des sarcomes





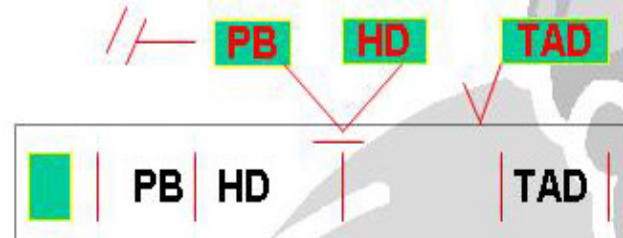
# Le synovialosarcome



## Pax 3\*-FKHR Translocation

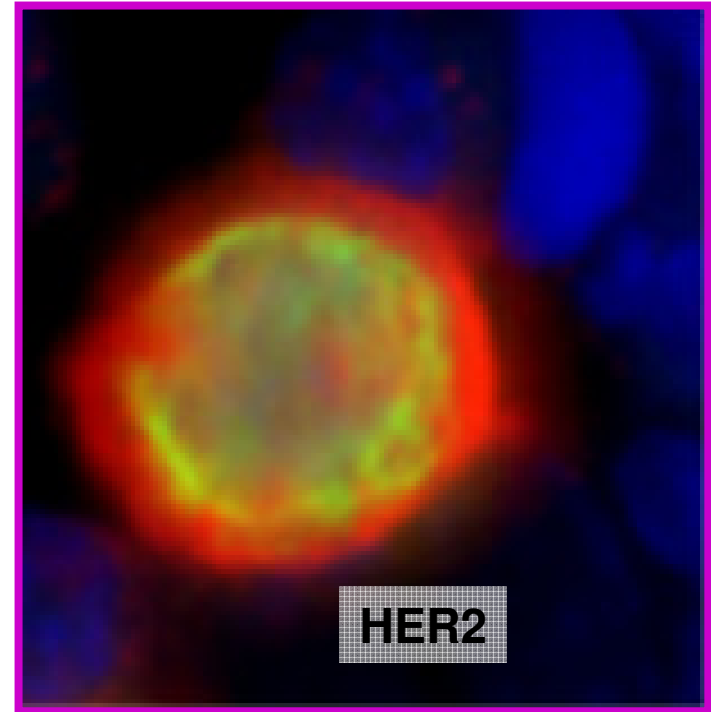
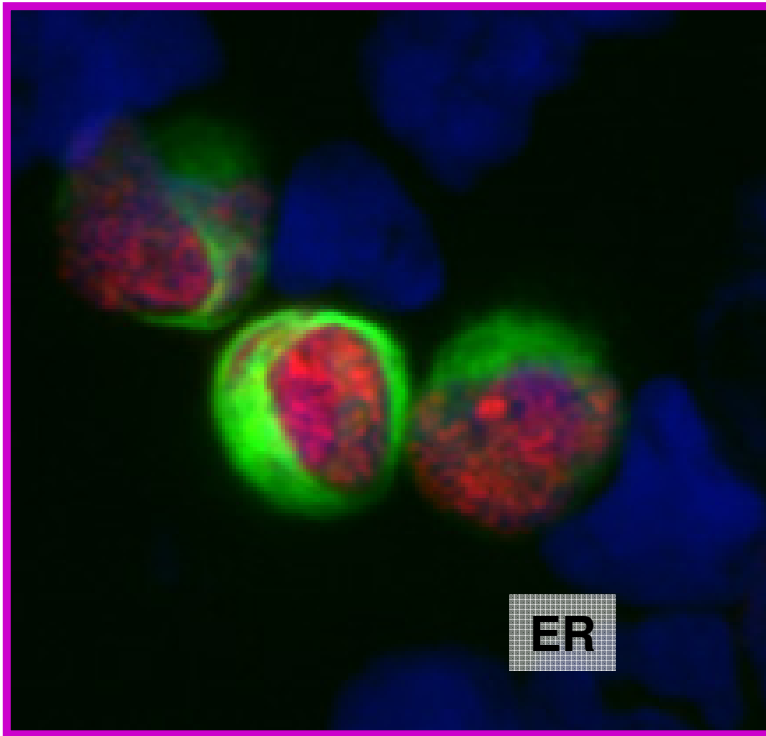
Pax 3 - Chr 2q35  
(Pax 7 - Chr 1p36)

FKHR - Chr 13q14

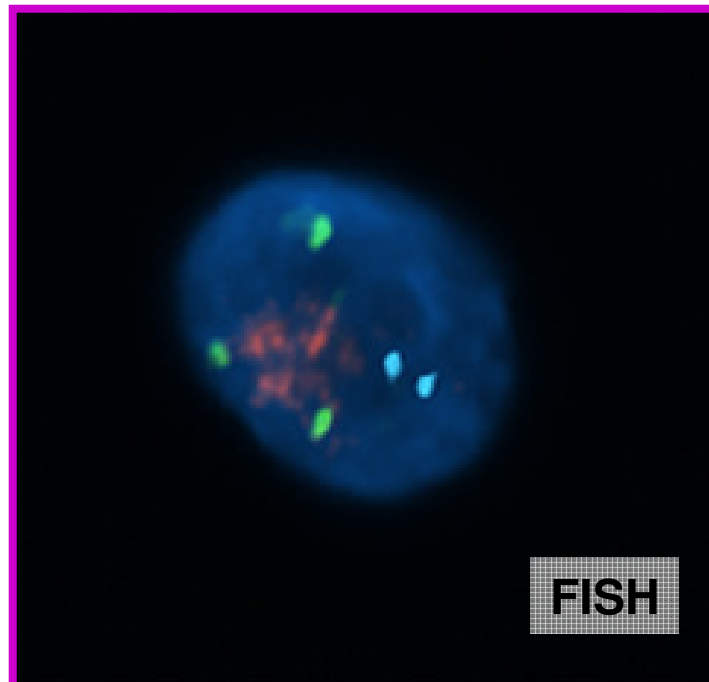


# Plan du cours

- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- Les buts de la pathologie moléculaire
- Exemple pour le diagnostic
- **Exemple pour le pronostic**
- Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples
- Programme des cours en pathologie moléculaire

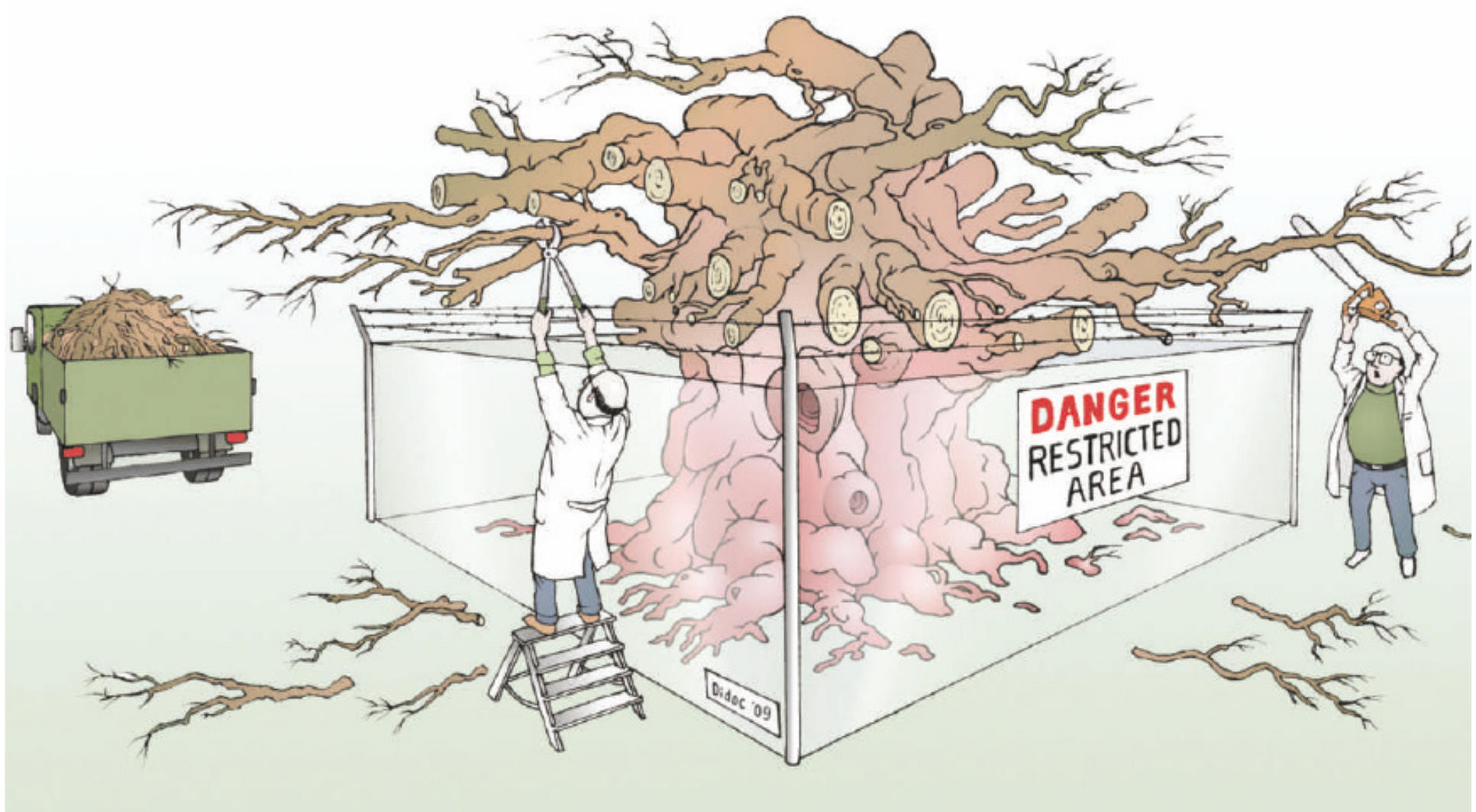


Statut HER2  
et cancer du sein



# Plan du cours

- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- Les buts de la pathologie moléculaire
- Exemple pour le diagnostic
- Exemple pour le pronostic
- **Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples**
- Programme des cours en pathologie moléculaire



# A change of strategy in the war on cancer

Patients and politicians anxiously await and increasingly demand a 'cure' for cancer. But trying to control the disease may prove a better plan than striving to cure it,

## Principaux cancers dont les mutations orientent vers une thérapie ciblée



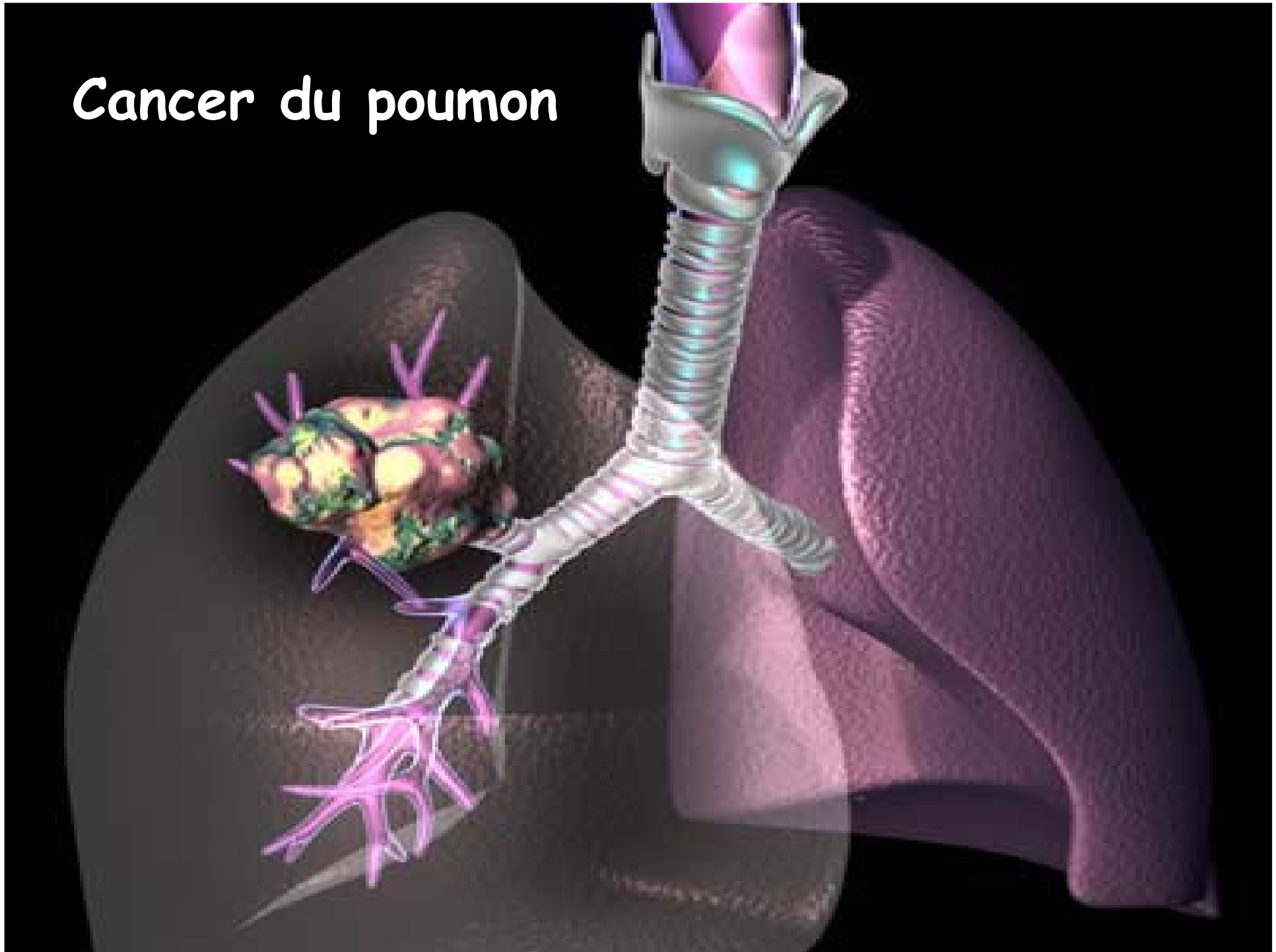
- Cancer du poumon non à petites cellules
- Adénocarcinome colique
- Cancer du sein
- Mélanome
- Autres (thyroïde, estomac, ...)

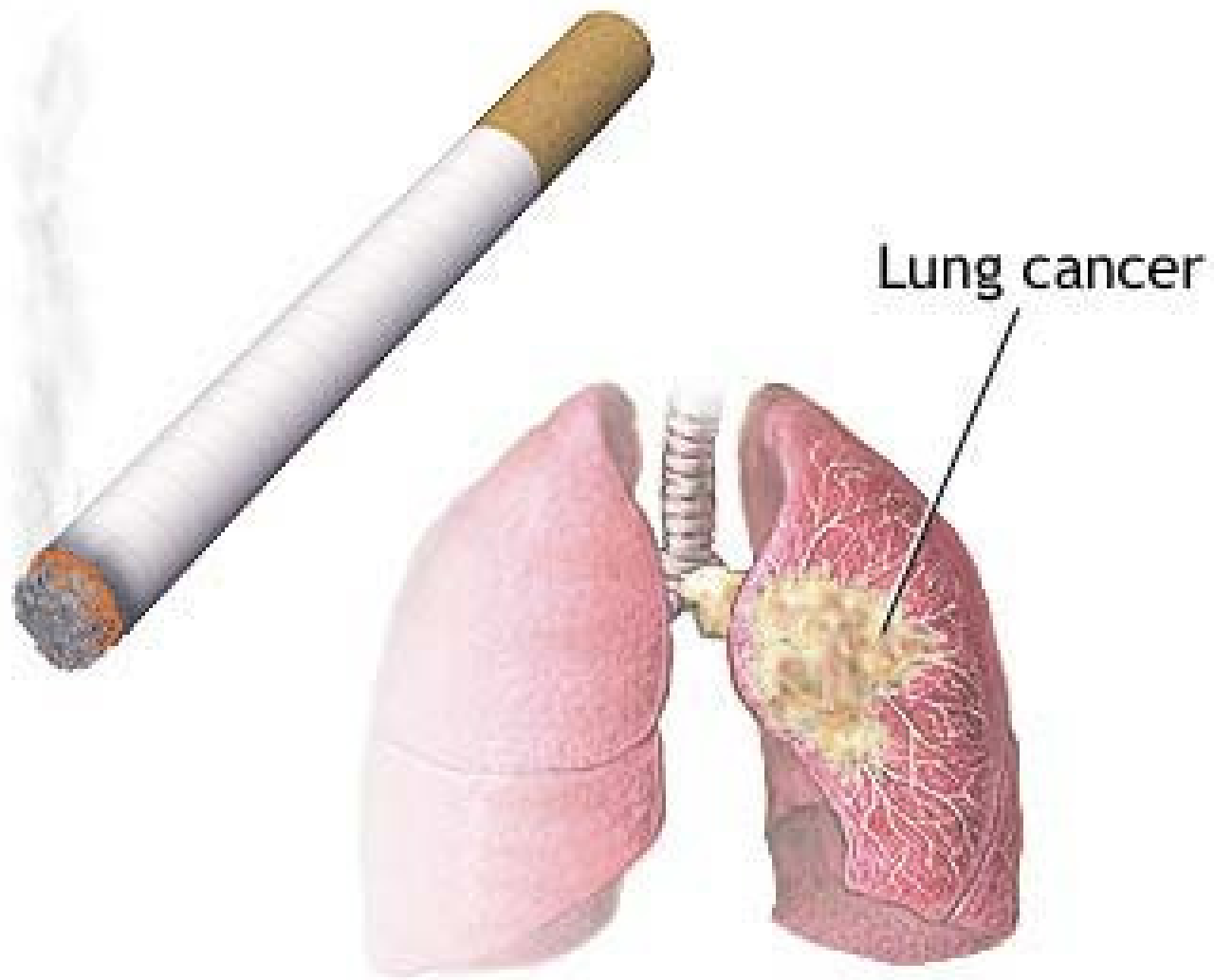
# Principales mutations à rechercher selon l'organe

- Cancer du poumon non à petites cellules
  - **EGFR (exons 19 et 21; exons 18 et 20)**
  - KRAS (exons 12 et 13; exon 61)
  - ALK
  - PI3KA, Her2
  - (LKB1, ...)
- Adénocarcinome colique
  - **KRAS (exons 12 et 13)**
  - **BRAF V600**
- Cancer du sein
  - **Her2 (RO, RP)**
- Mélanome
  - **BRAF (V600)**
  - **C-kit**
  - NRAS
- Autres (thyroïde, estomac ...) ?
  - BRAF (V600) : Carcinome papillaire
  - Her2: Carcinome gastrique



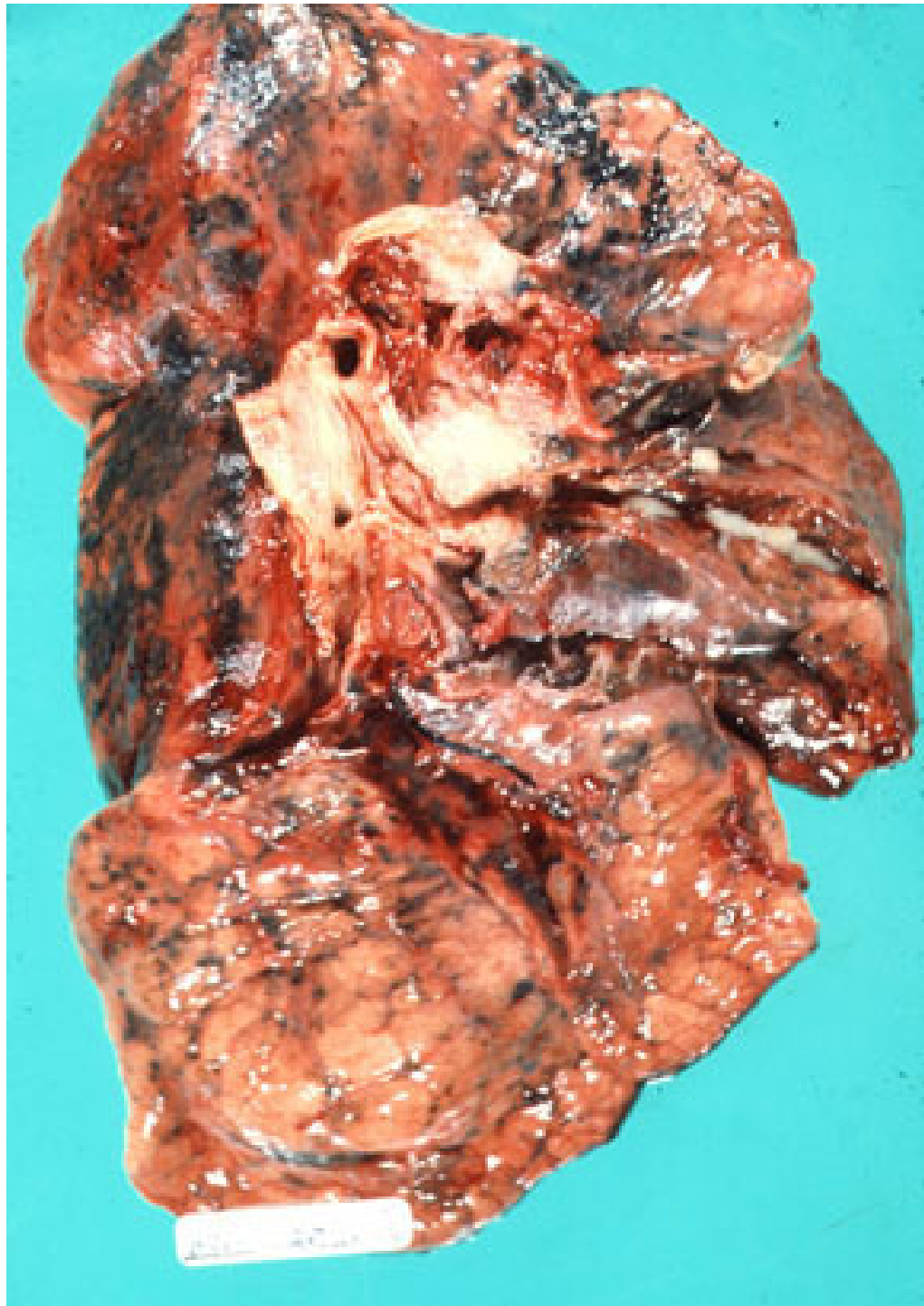
# Cancer du poumon













# Le défi du carcinome broncho-pulmonaire non à petites cellules (CBPNPC)

---



**80%** des cancers du poumon



**Mortalité élevée** : 1ère cause de mortalité par cancer chez l'homme (et 3ème chez la femme)



**Diagnostic tardif** avec une majorité de patients diagnostiqués avec une forme localement avancée (IIIA-IIIB) ou métastatique (IV)



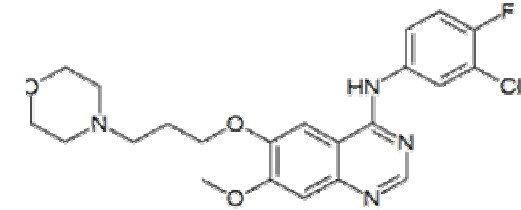
**Absence d'utilisation de moyens de détection précoce**



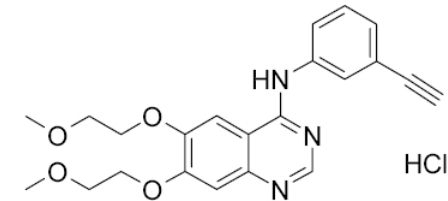
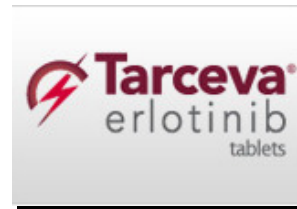
**Plafonnement thérapeutique actuel**

# Ciblage thérapeutique de l'EGFR

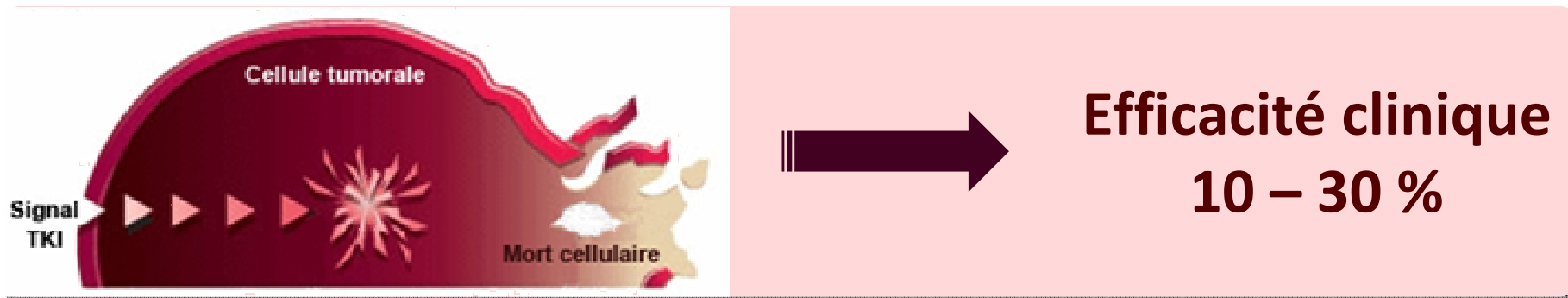
IRESSA (Gefitinib)

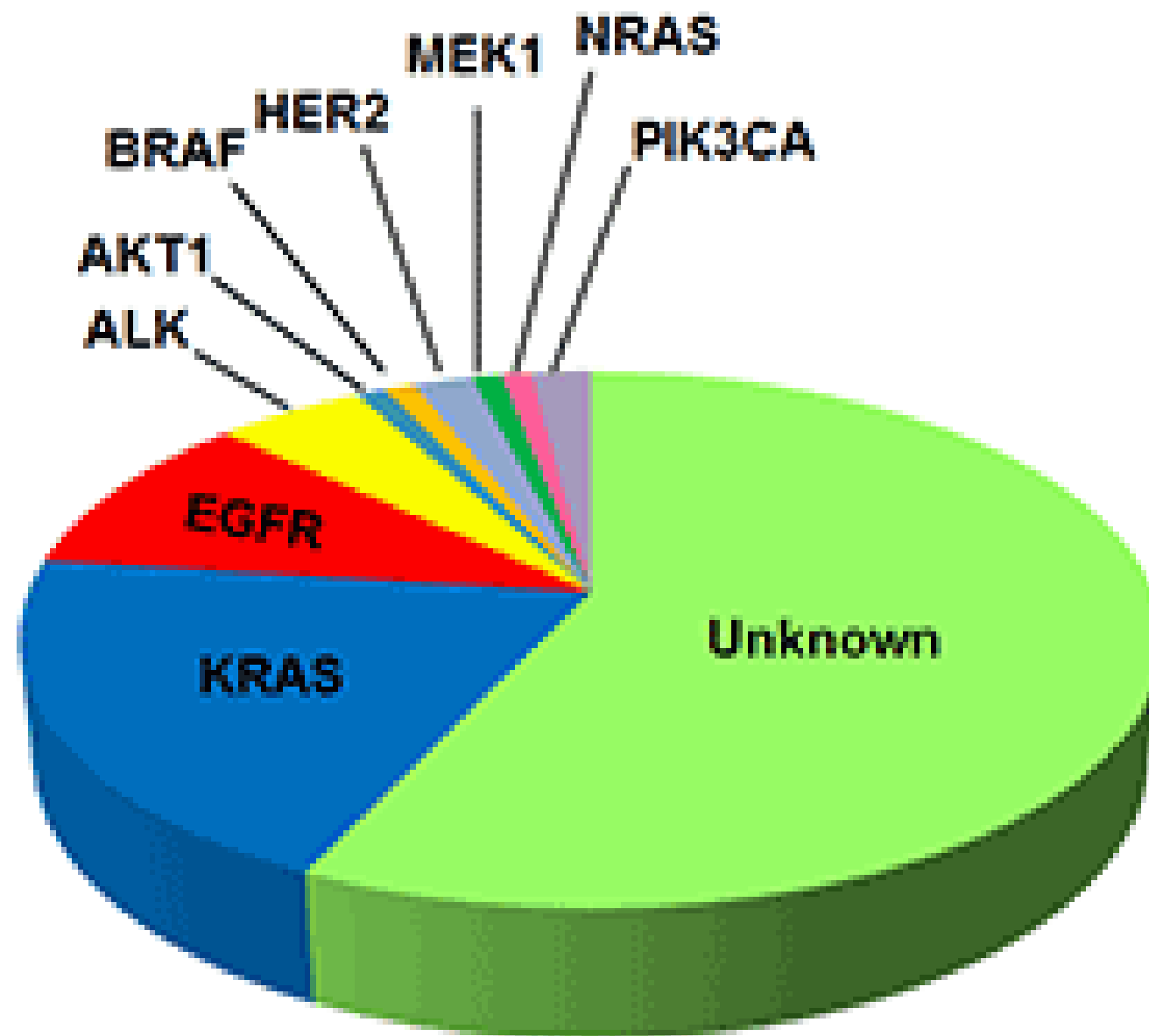


TARCEVA (Erlotinib)

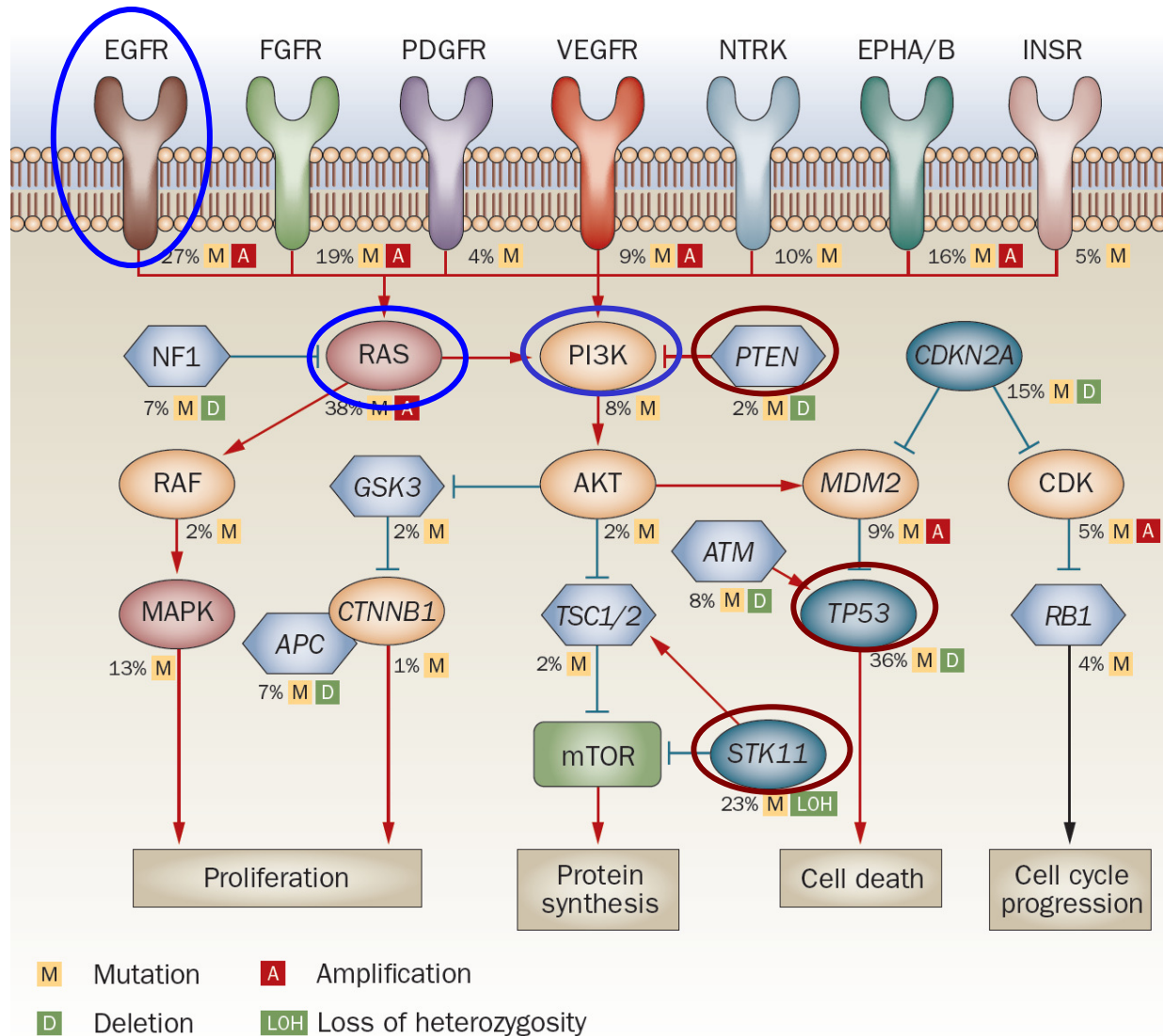


ERBITUX (Cetuximab)

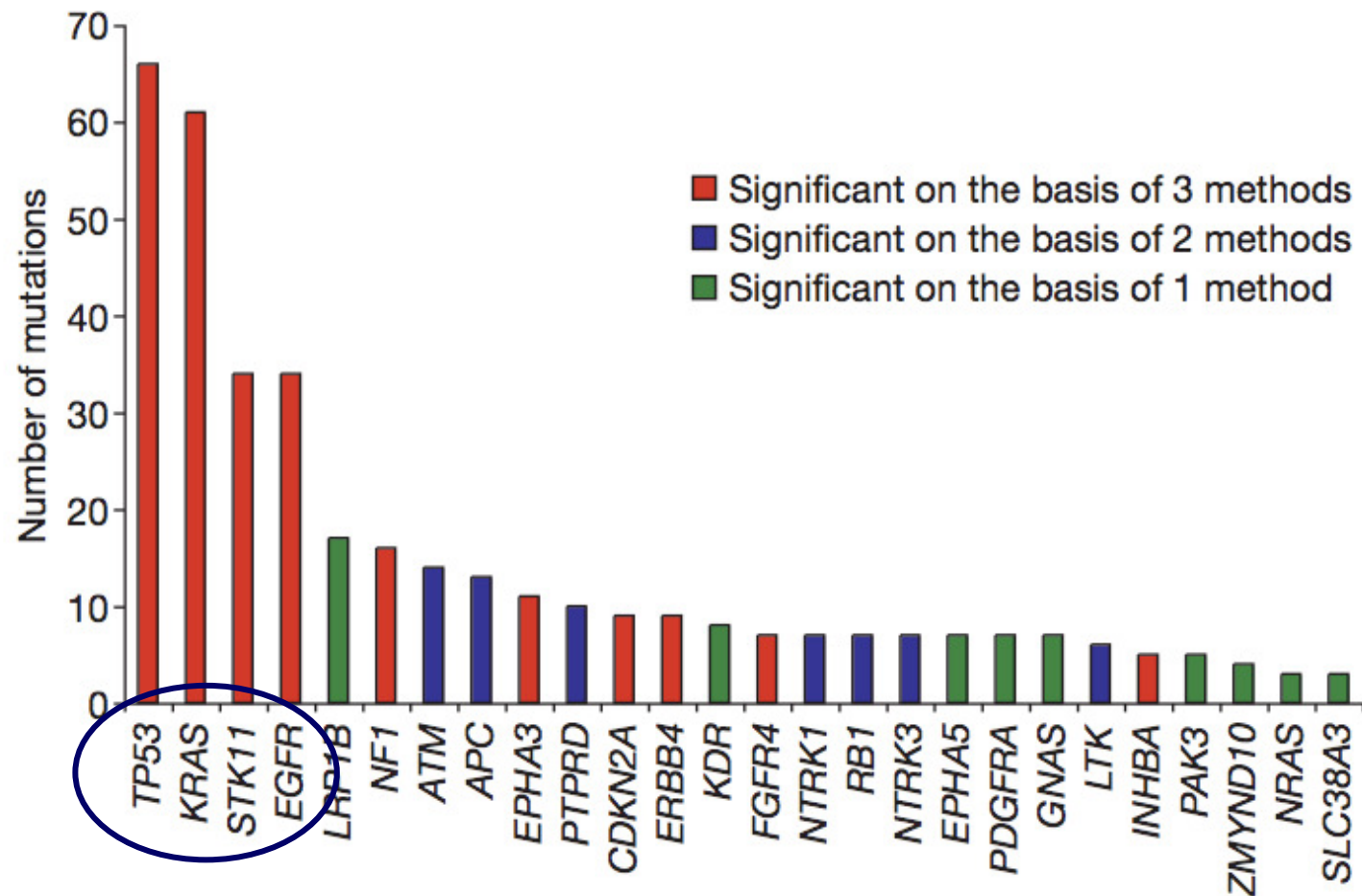




# Significantly mutated pathways in adenocarcinoma of the lung

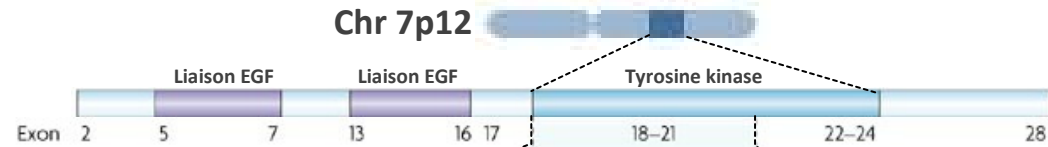


# Significantly mutated genes in lung adenocarcinomas



Number of somatic mutations in each indicated gene in 188 tumour and normal pair

# Mutations activatrices de l'EGFR



80 – 90% patients répondeurs aux TKI



**G719C**  
**G719S**  
**G719A**  
V698M  
N700D  
E709K/Q  
S720P

5%

**ΔE746-A750**  
ΔE746-T751  
ΔE746-A750 (ins RP)  
ΔE746-T751 (ins A/I)  
ΔE746-A751 (ins VA)  
ΔE747-T751  
ΔE747-A751 (ins P/S)  
ΔE747-T752  
ΔE747-T752 (E746V)  
ΔE747-T752 (ins Q)  
ΔE747-T753  
ΔE747-T753 (ins S)  
ΔE752-T759

45%

V765A  
T783A  
**< 1%**

**L858R (40 – 45%)**  
N826S  
A839T  
K846R  
L861Q  
G863D

40 – 45%

Mutations sensibles

**Exon 19 (70 – 100%) > Exon 21 (20 – 67%)**  
**Survie globale: 26 à 34 mois > 8 à 17 mois**

## Appel d'offres 2009

Tous les patients atteints d'un adénocarcinome du poumon **devraient pouvoir avoir accès au test EGFR pour déterminer le statut mutationnel de leur tumeur.** Celui-ci permettrait de leur prescrire le traitement dont ils sont le plus susceptibles de bénéficier : traitement ciblé anti-EGFR ou chimiothérapie standard. 10.000 examens devraient ainsi être effectués par an.

Afin de faciliter l'accès des patients à ces thérapies ciblées, l'INCa propose de débloquer une subvention exceptionnelle en 2009 pour les analyses EGFR effectuées en 2010 par les **plates-formes hospitalières de génétique moléculaire reconnues par le programme INCa\DHOS 2006-2008.**

En contrepartie, les plates-formes s'engageront dans le cadre d'une convention avec l'INCa, et pour la durée de celle-ci :

- à réaliser les tests EGFR pour l'ensemble des patients **de leur région sans les facturer,**
- à **dédommager les laboratoires ou les cabinets d'anatomopathologie qui leur adressent les prélèvements à hauteur de 30 euros par dossier,**
- à fournir un reporting d'activité trimestriel à l'INCa (nombre de tests EGFR, pourcentage des prescriptions internes ou externes) et un rapport final d'activité.

# La recherche des biomarqueurs en routine ?

- Les biomarqueurs
- Pathologie moléculaire en oncologie thoracique
- Les appels d'offres de l'INCa
- **L'état des lieux en France à l'automne 2010**
- La réalité de terrain: le point de vue d'un responsable de plateforme
- Quelles perspectives ?

**Bilan de l'activité EGFR  
des plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancer**

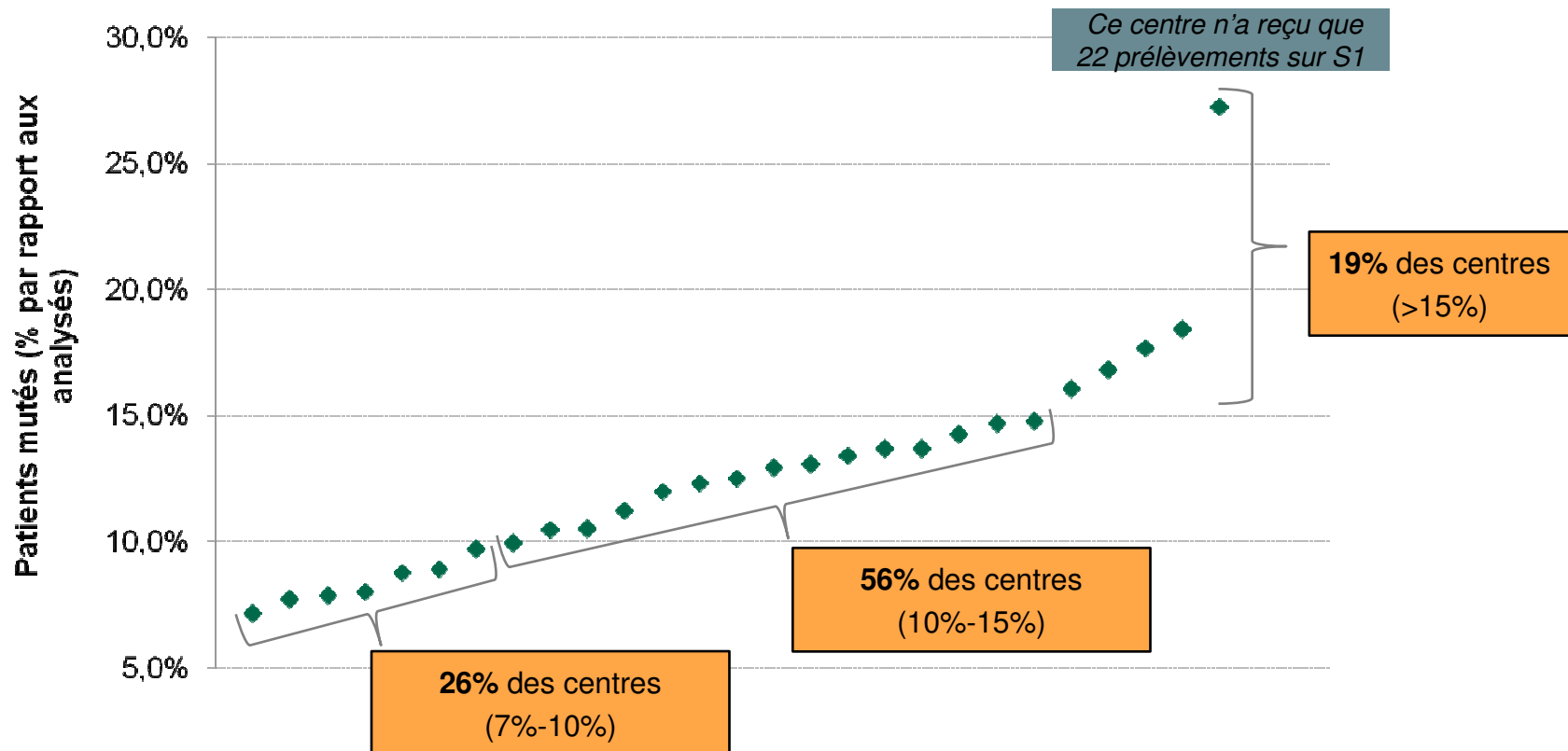
- premier, deuxième et troisième trimestres 2010 -

**Nombre de tests effectués et de mutations identifiées**

	Nombre de patients			
	total	avec mutation EGFR	sans mutation EGFR	avec résultat non interprétable
Premier trimestre 2010	3125	377 (12,1%)	2 597 (83,1%)	164 (5,2%)
Deuxième trimestre 2010	4429	470 (10,6%)	3 703 (83,6%)	247 (5,6%)
Troisième trimestre 2010	4292	409 (9,5%)	3 609 (84,1%)	274 (6,4%)
<b>Bilan des 3 premiers trimestres 2010</b>	<b>11 846</b>	<b>1 256 (10,6%)</b>	<b>9 909 (83,6%)</b>	<b>685 (5,8%)</b>

# Taux moyen de patients mutés = 13% (de 7% à 18%)

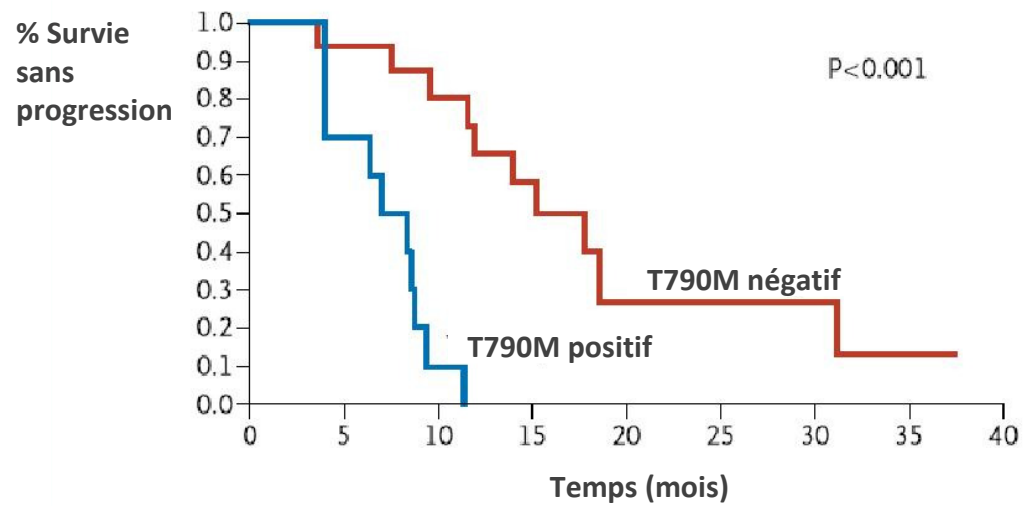
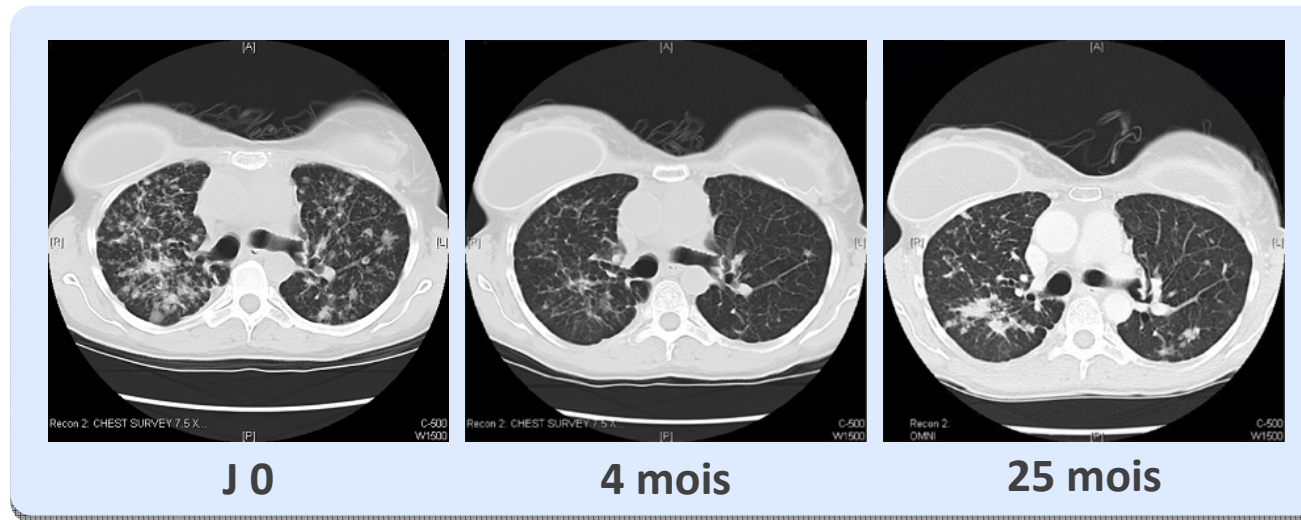
Patients mutés (% par rapport aux analysés)



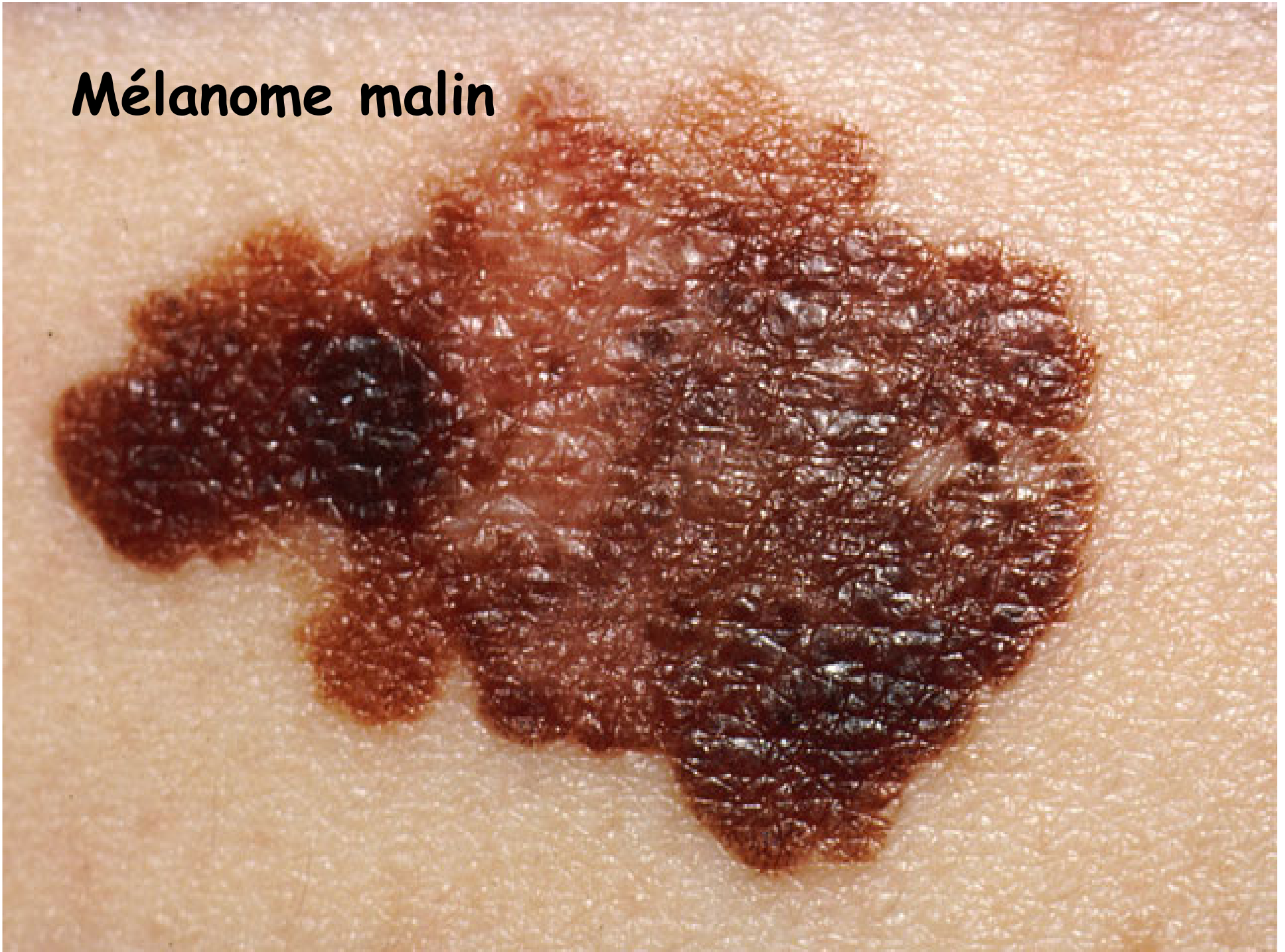
Questionnaire AstraZeneca nov 2010

Taux de réponse: 96% (27 centres)

# Résistance aux TKI



**Mélanome malin**







*The* NEW ENGLAND  
JOURNAL *of* MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

AUGUST 26, 2010

VOL. 363 NO. 9

## Inhibition of Mutated, Activated BRAF in Metastatic Melanoma

Keith T. Flaherty, M.D., Igor Puzanov, M.D., Kevin B. Kim, M.D., Antoni Ribas, M.D.,  
Grant A. McArthur, M.B., B.S., Ph.D., Jeffrey A. Sosman, M.D., Peter J. O'Dwyer, M.D., Richard J. Lee, M.D., Ph.D.,  
Joseph F. Grippio, Ph.D., Keith Nolop, M.D., and Paul B. Chapman, M.D.

# The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

AUGUST 26, 2010

VOL. 363 NO. 9

## Inhibition of Mutated, Activated BRAF in Metastatic Melanoma

Keith T. Flaherty, M.D., Igor Puzanov, M.D., Kevin B. Kim, M.D., Antoni Ribas, M.D.,  
Grant A. McArthur, M.B., B.S., Ph.D., Jeffrey A. Sosman, M.D., Peter J. O'Dwyer, M.D., Richard J. Lee, M.D., Ph.D.,  
Joseph F. Grippio, Ph.D., Keith Nolop, M.D., and Paul B. Chapman, M.D.

## LETTER

doi:10.1038/nature09454

## Clinical efficacy of a RAF inhibitor needs broad target blockade in *BRAF*-mutant melanoma

Gideon Bollag<sup>1</sup>, Peter Hirth<sup>1</sup>, James Tsai<sup>1</sup>, Jiazhong Zhang<sup>1</sup>, Prabha N. Ibrahim<sup>1</sup>, Hanna Cho<sup>1</sup>, Wayne Spevak<sup>1</sup>, Chao Zhang<sup>1</sup>, Ying Zhang<sup>1</sup>,  
Gaston Habets<sup>1</sup>, Elizabeth A. Burton<sup>1</sup>, Bernice Wong<sup>1</sup>, Garson Tsang<sup>1</sup>, Brian L. West<sup>1</sup>, Ben Powell<sup>1</sup>, Rafe Shellooe<sup>1</sup>, Adhirai Marimuthu<sup>1</sup>,  
Hoa Nguyen<sup>1</sup>, Kam Y. J. Zhang<sup>1</sup>, Dean R. Artis<sup>1</sup>, Joseph Schlessinger<sup>2</sup>, Fei Su<sup>3</sup>, Brian Higgins<sup>3</sup>, Raman Iyer<sup>3</sup>, Kurt D'Andrea<sup>4</sup>,  
Astrid Koehler<sup>3</sup>, Michael Stumm<sup>3</sup>, Paul S. Lin<sup>1</sup>, Richard J. Lee<sup>3</sup>, Joseph Grippio<sup>3</sup>, Igor Puzanov<sup>5</sup>, Kevin B. Kim<sup>6</sup>, Antoni Ribas<sup>7</sup>,  
Grant A. McArthur<sup>8</sup>, Jeffrey A. Sosman<sup>5</sup>, Paul B. Chapman<sup>9</sup>, Keith T. Flaherty<sup>4†</sup>, Xiaowei Xu<sup>4</sup>, Katherine L. Nathanson<sup>4</sup> & Keith Nolop<sup>1</sup>

## Rare victory in fight against melanoma

Patients with advanced melanoma rarely live for more than a year after their diagnosis — a prognosis that has not improved for more than 30 years. But clinical-trial results<sup>1</sup> now suggest that a genetically targeted approach could slow the disease's steady march through the body, and separate research<sup>2</sup> reveals why the latest drug being tested may succeed where others failed.

The drug could be the first melanoma treatment to join an elite but expanding list of cancer therapies tailored to a patient's genetic make-up (see 'Seek and destroy'). "It's spectacular," says Richard Marais, a molecular biologist at the Institute of Cancer Research in London, who was not affiliated with either study. "There's been a paradigm shift in how you would treat melanoma."

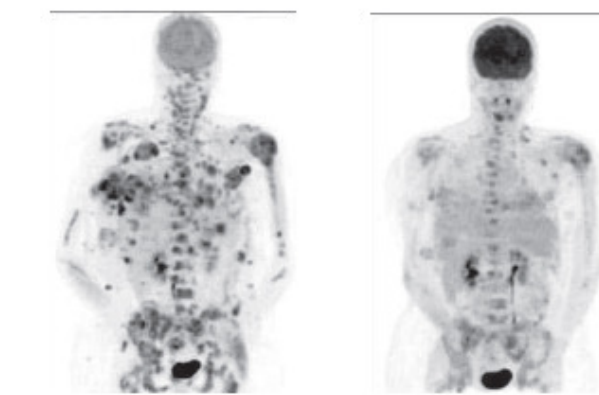
In 2002, Marais and his colleagues reported<sup>3</sup> that more than 60% of patients with melanoma — cancer of the melanin-producing

cells typically found in skin — carry mutations in a gene that encodes a protein called B-RAF. The mutations trigger a signalling pathway that accelerates cancerous cell growth.

Drug companies pricked up their ears at the discovery. One of them, a small biotechnology company in Berkeley, California, called Plexxikon, started fishing for compounds that would selectively block mutated B-RAF by filling the unique pocket that the genetic mutation etches into the protein's three-dimensional structure.

At first, the approach was greeted with scepticism, says Plexxikon's chief executive Peter Hirth. Decades of failure had taught drug companies to shy away from testing drugs against advanced melanoma. "People don't want to do clinical trials in melanoma," agrees Marais. "It's sort of the death knell for all cancer therapies."

Early tests of Plexxikon's drug, called PLX4032, were



Melanoma tumours shrank after patients took PLX4032 for 2 weeks.

disappointing. Some patients in the trial were taking dozens of pills a day, to no effect. "But we just couldn't give the patients any more pills," says Paul Chapman, a cancer researcher at the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center in New York and a co-author on the latest clinical trial<sup>1</sup>. "We were starting to think we were going to obstruct their gut with all the cellulose

from the capsules." So Plexxikon, together with its partner, Swiss drug maker Roche, developed a new formulation of the drug that was more easily absorbed by the body.

That reformulation proved crucial. On 26 August, researchers published the first findings from a small clinical trial of the reformulated drug. In one arm of the study<sup>1</sup>, tumours shrank by at least

REF. 2

# Progression of *NRAS* and *BRAF* Mutations in Cutaneous Melanoma

Ritchie Rosso<sup>1</sup>, Yvonne Romagosa<sup>1</sup> and Robert S Kirsner<sup>1</sup>

*Journal of Investigative Dermatology* (2009) **129**, 1318. doi:10.1038/jid.2009.107

Biochemical Pharmacology 80 (2010) 568–574



Contents lists available at ScienceDirect

Biochemical Pharmacology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/biochempharm](http://www.elsevier.com/locate/biochempharm)



Review

## Targeting KIT in melanoma: A paradigm of molecular medicine and targeted therapeutics

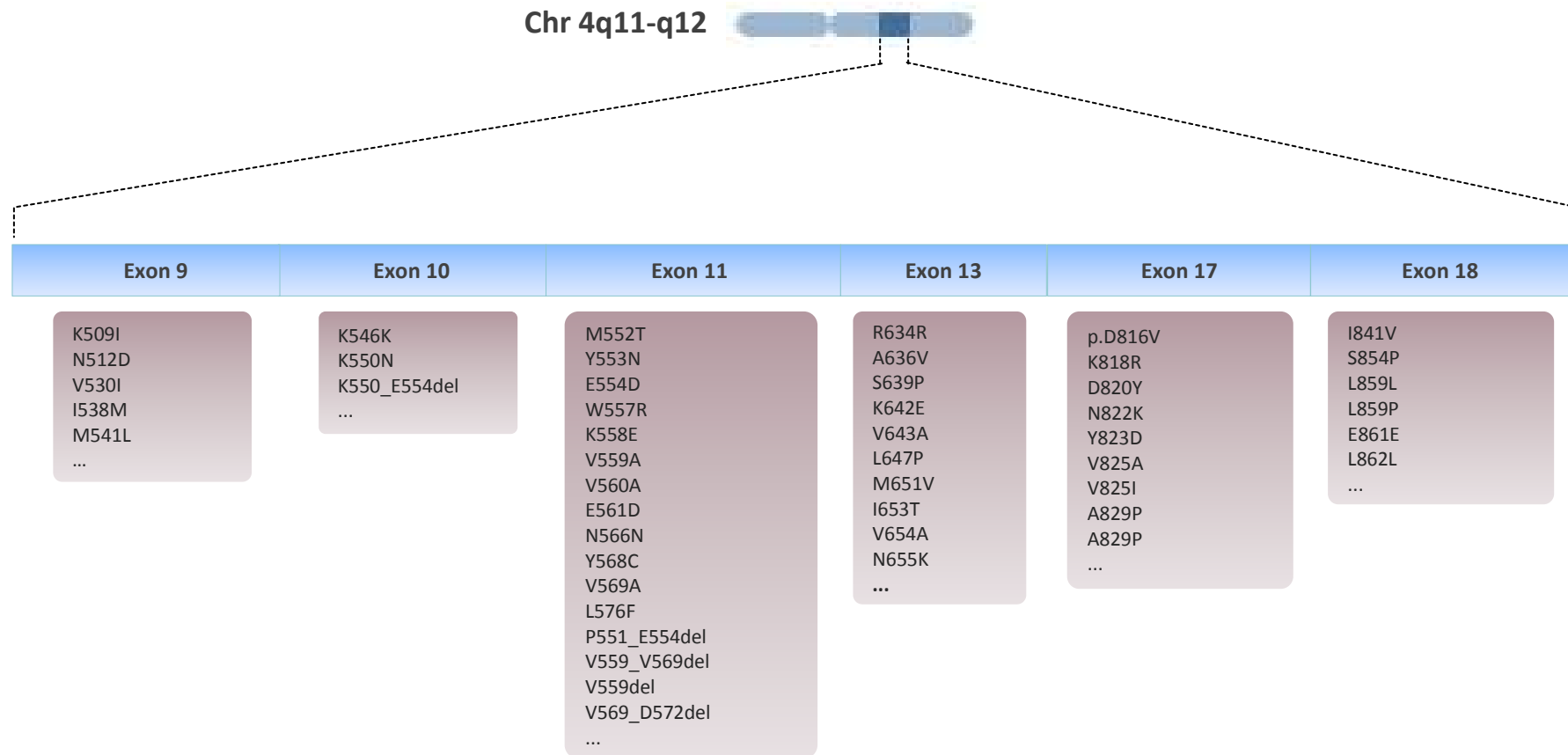
Scott E. Woodman<sup>\*</sup>, Michael A. Davies

*Departments of Melanoma Medical Oncology and Systems Biology, University of Texas, M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX 77030, USA*

**Table 1**  
Frequency of KIT mutations in subtypes of melanoma<sup>a</sup>.

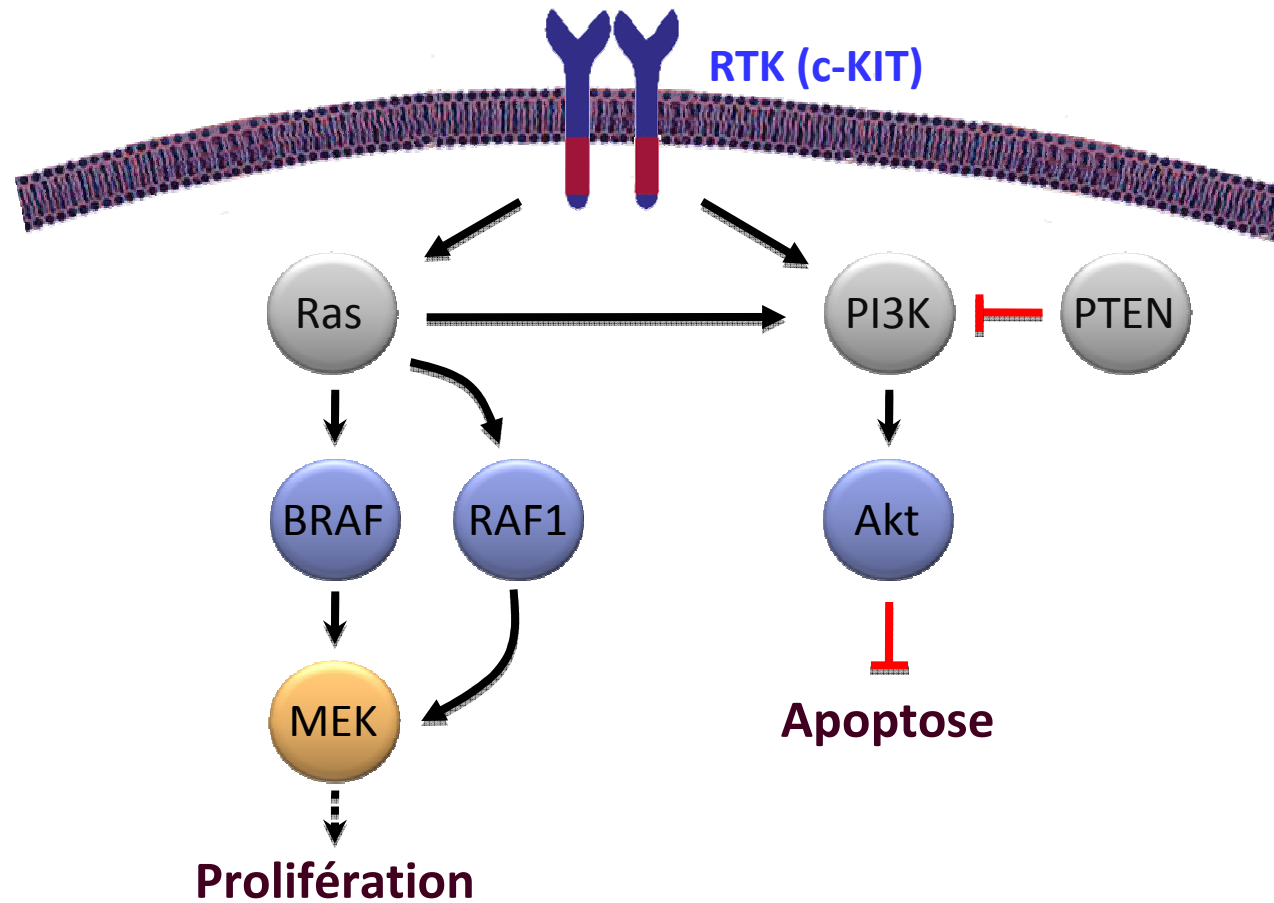
	Melanoma subtype			
	Exons tested	Not characterized	Acral	Mucosal
Went (2004) <sup>b,c</sup>	2,8,9,11,13,17	1/2 (50%)	–	–
Willmore-Payne (2004) <sup>b,c</sup>	9,11,13,17	2/29 (7%)	–	–
Willmore-Payne (2006) <sup>b,c,d</sup>	11	1/6 (17%)	–	–
Curtin (2006) <sup>e</sup>	11, 13, 17, 18	–	3/28 (11%)	8/38 (21%)
Antonescu (2007) <sup>e</sup>	11, 13, 17	–	–	3/20 (15%)
Rivera (2007)	11, 13	–	–	4/15 (27%)
Beadling (2008) <sup>b,d</sup>	11, 13, 17	–	3/13 (23%)	7/45 (16%)
Satzger (2008)	9, 11, 13, 17, 18	–	–	6/32 (19%)
Ashida (2008)	11, 13, 17, 18	–	2/16 (13%)	0/3 (0%)
Torres-Cabala (2009)	11, 13, 17	–	5/39 (13%)	9/52 (17%)
			<b>13/96</b>	<b>37/205</b>
			<b>14%</b>	<b>18%</b>

# Mutations activatrices de *c-KIT*



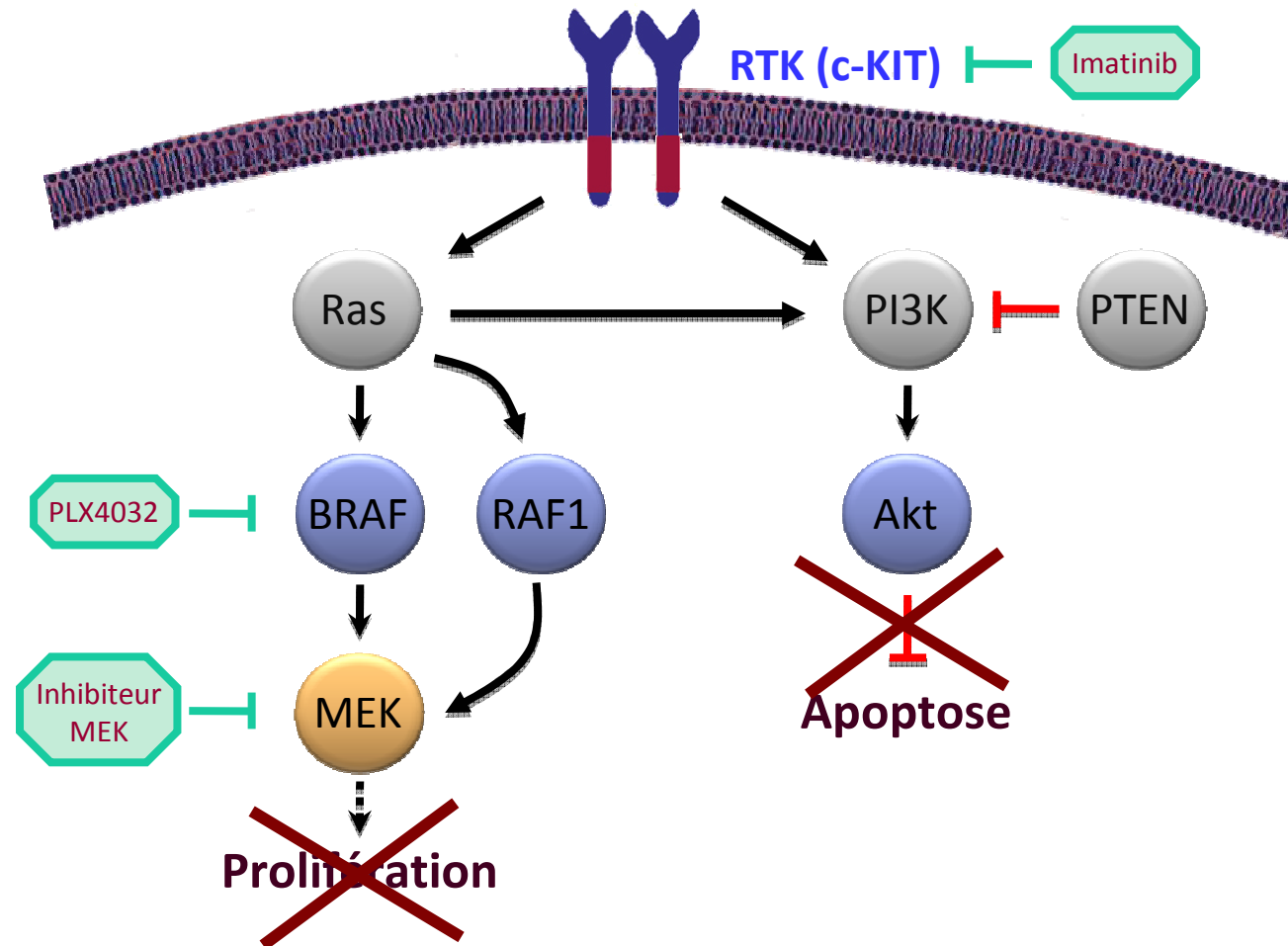
1. Sanger Cosmic Database (<http://www.sanger.ac.uk/>)
2. Beadling et al, KIT Mutations and Copy Number in Melanoma Subtypes, Clin Cancer Res, 2008

● ● ● Principales voies oncogéniques dans les mélanomes



1. Smalley K and Sondak V, Melanoma — An Unlikely Poster Child for Personalized Cancer Therapy, N Engl J Med, 2010
2. Davies MA and Samuels Y, Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma, Oncogene, 2010

## ● ● ● Thérapies ciblées dans les mélanomes



1. Smalley K and Sondak V, Melanoma — An Unlikely Poster Child for Personalized Cancer Therapy, N Engl J Med, 2010
2. Davies MA and Samuels Y, Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma, Oncogene, 2010

**Cancer de la thyroïde**



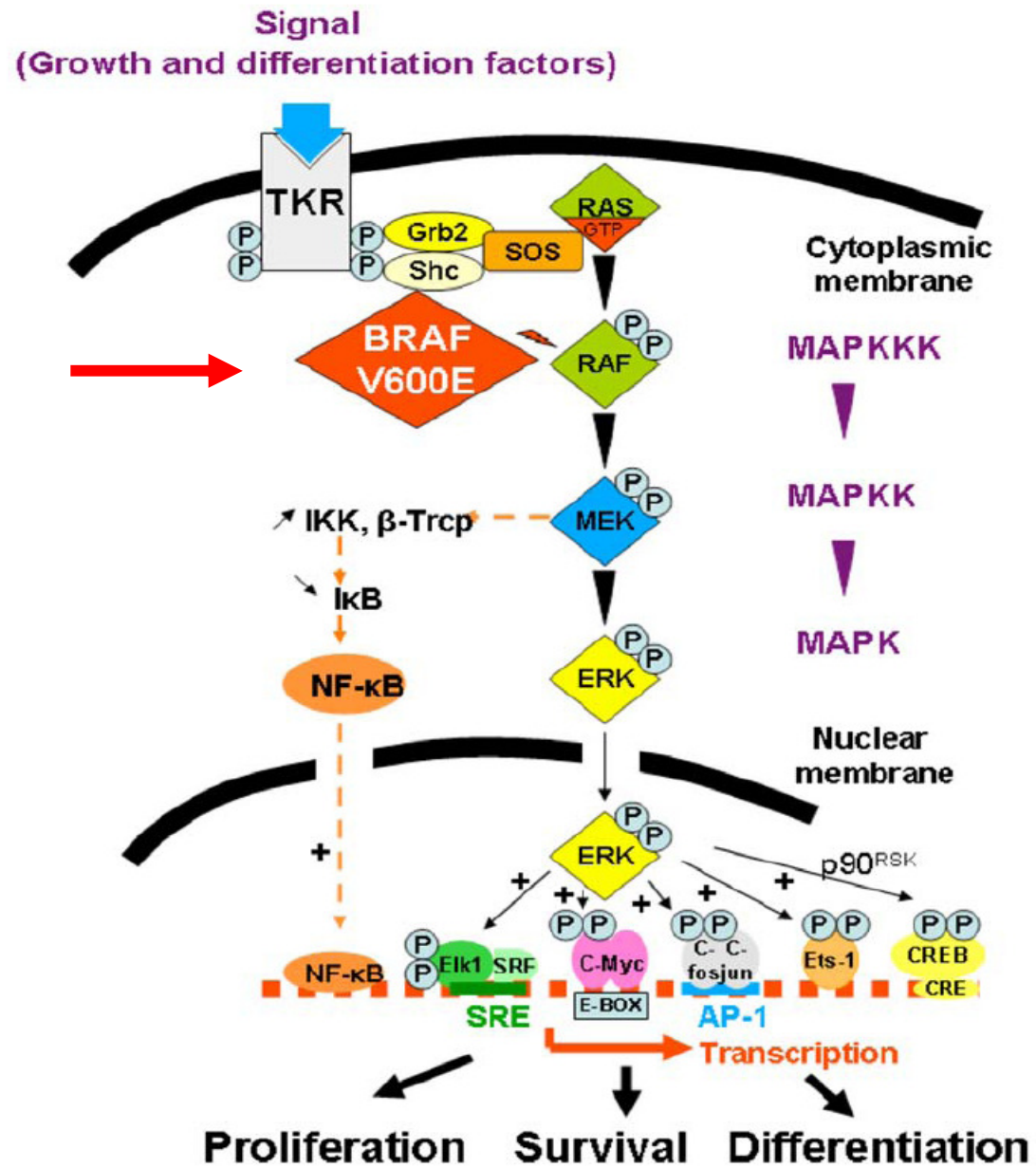


# Parfois des cancers familiaux

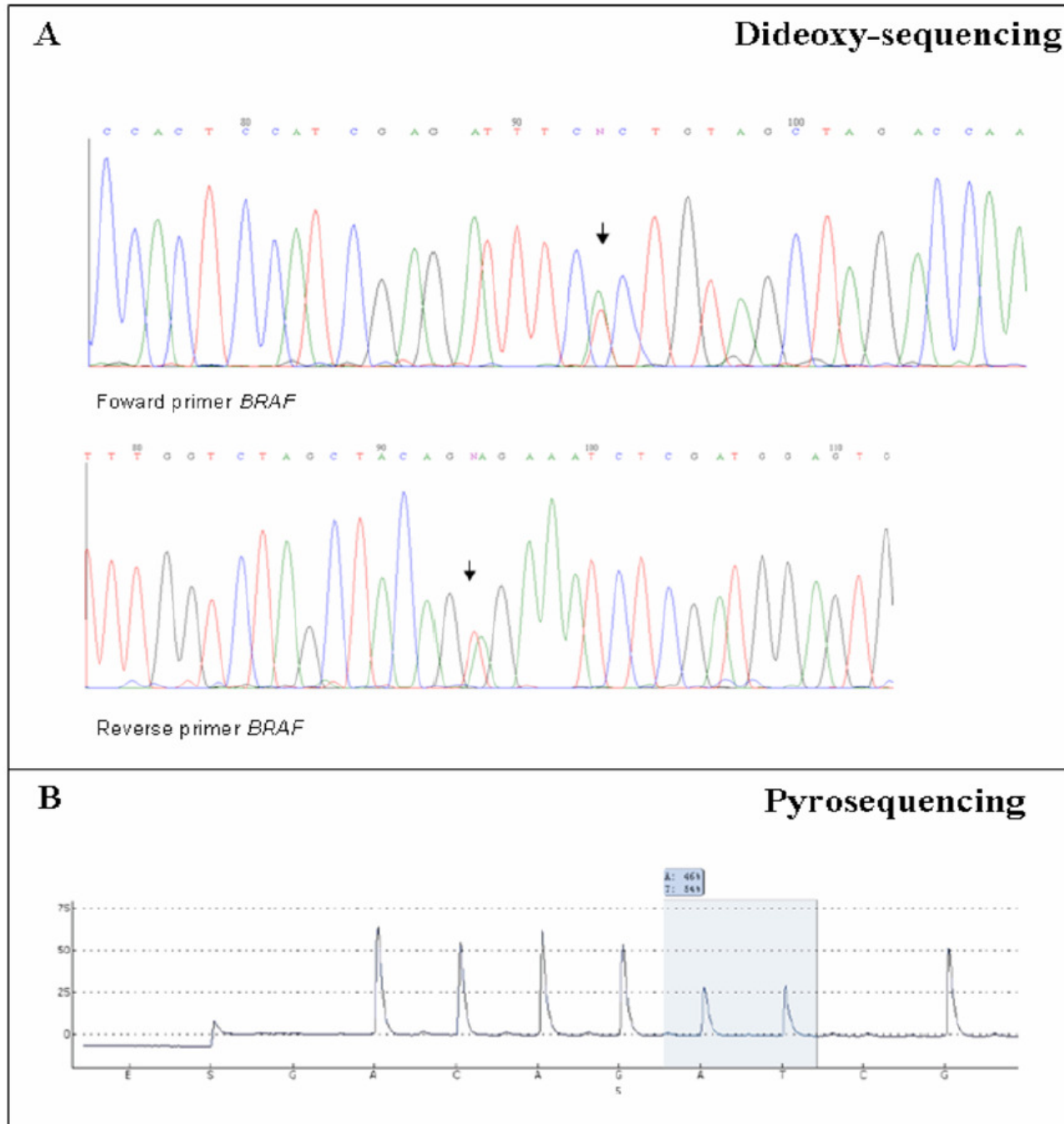


Chernobyl victims after thyroid cancer surgery  
Photograph by Gerd Ludwig



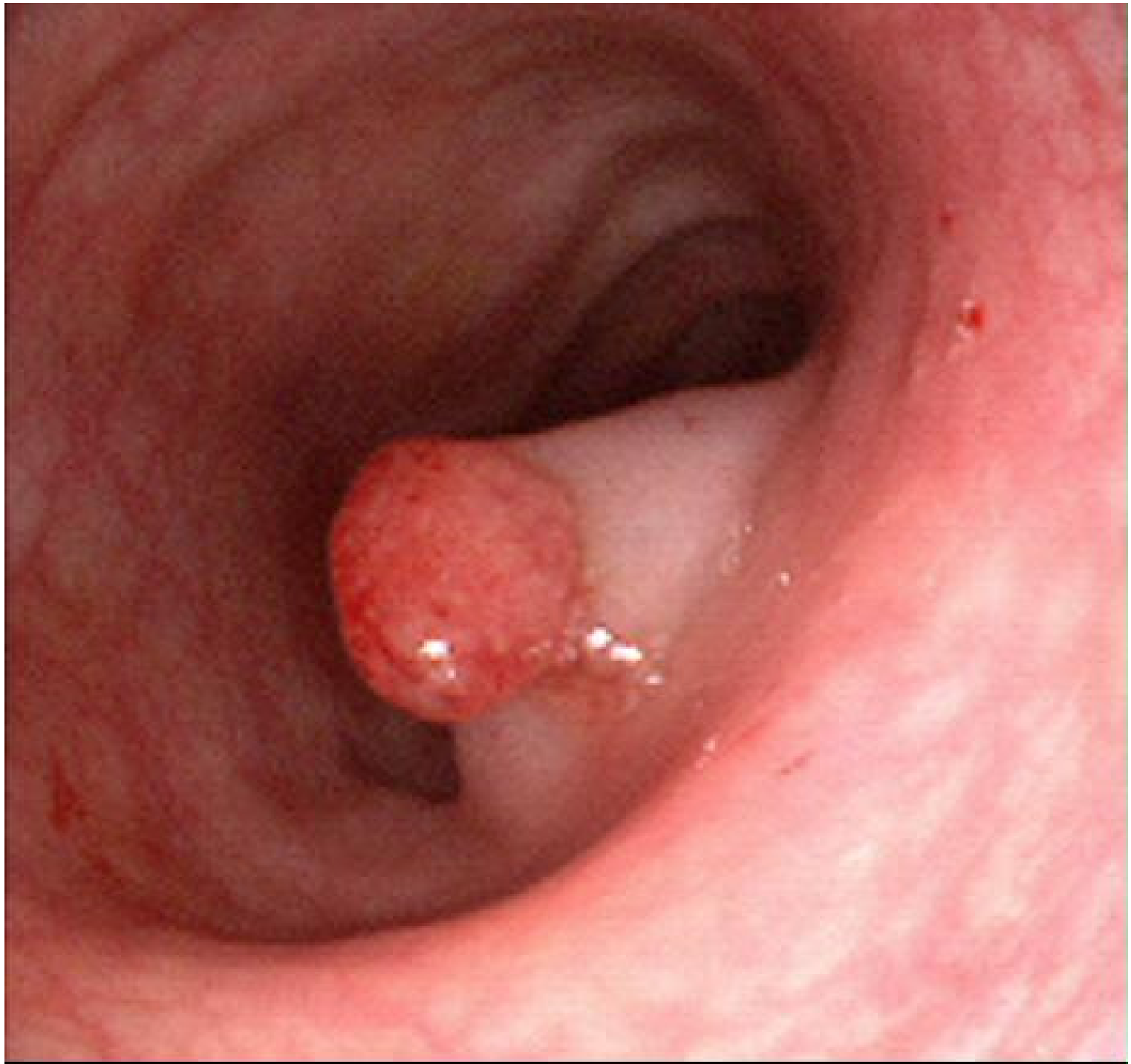


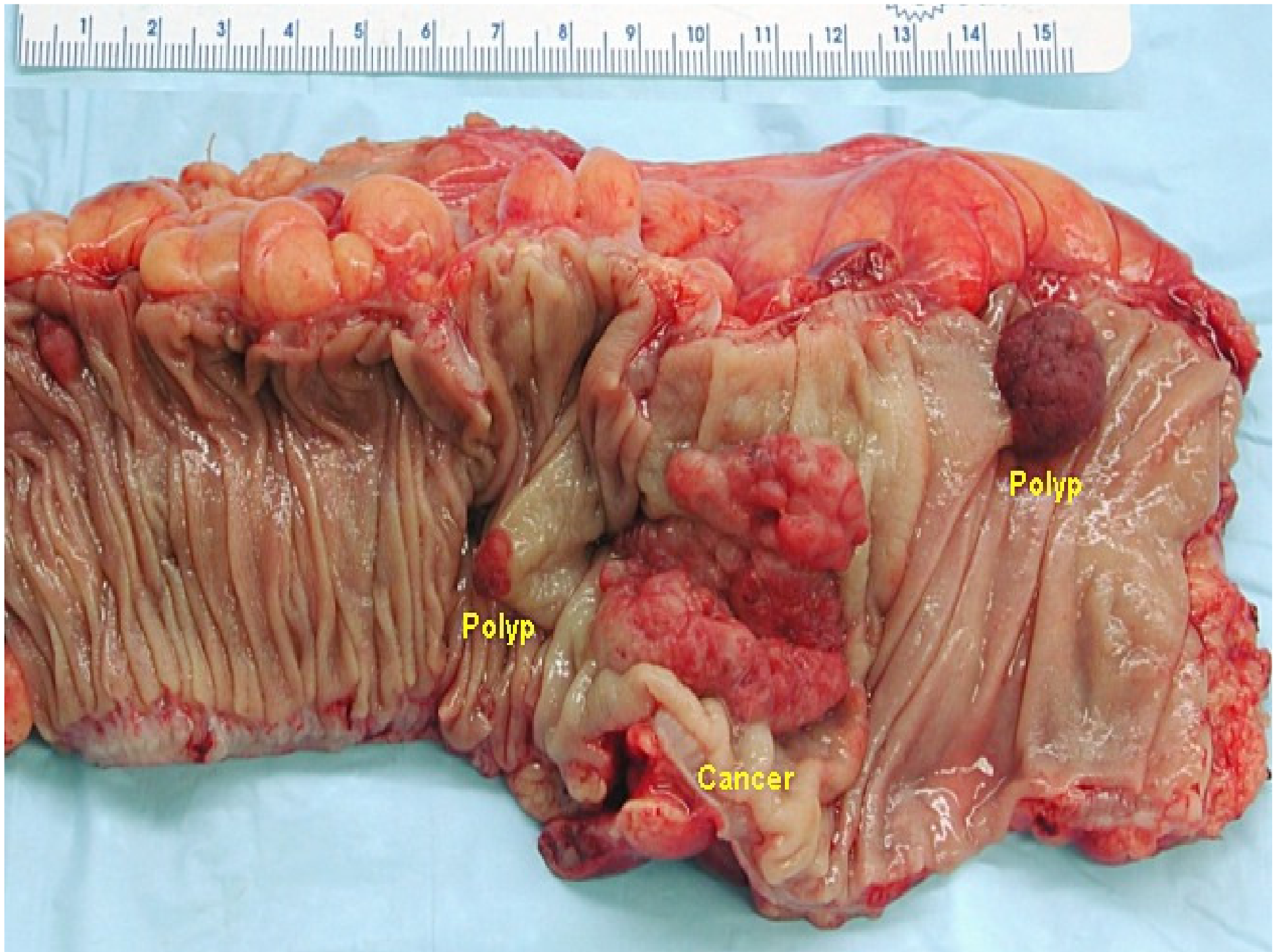
# Mutation de BRAF



# Cancer du colon





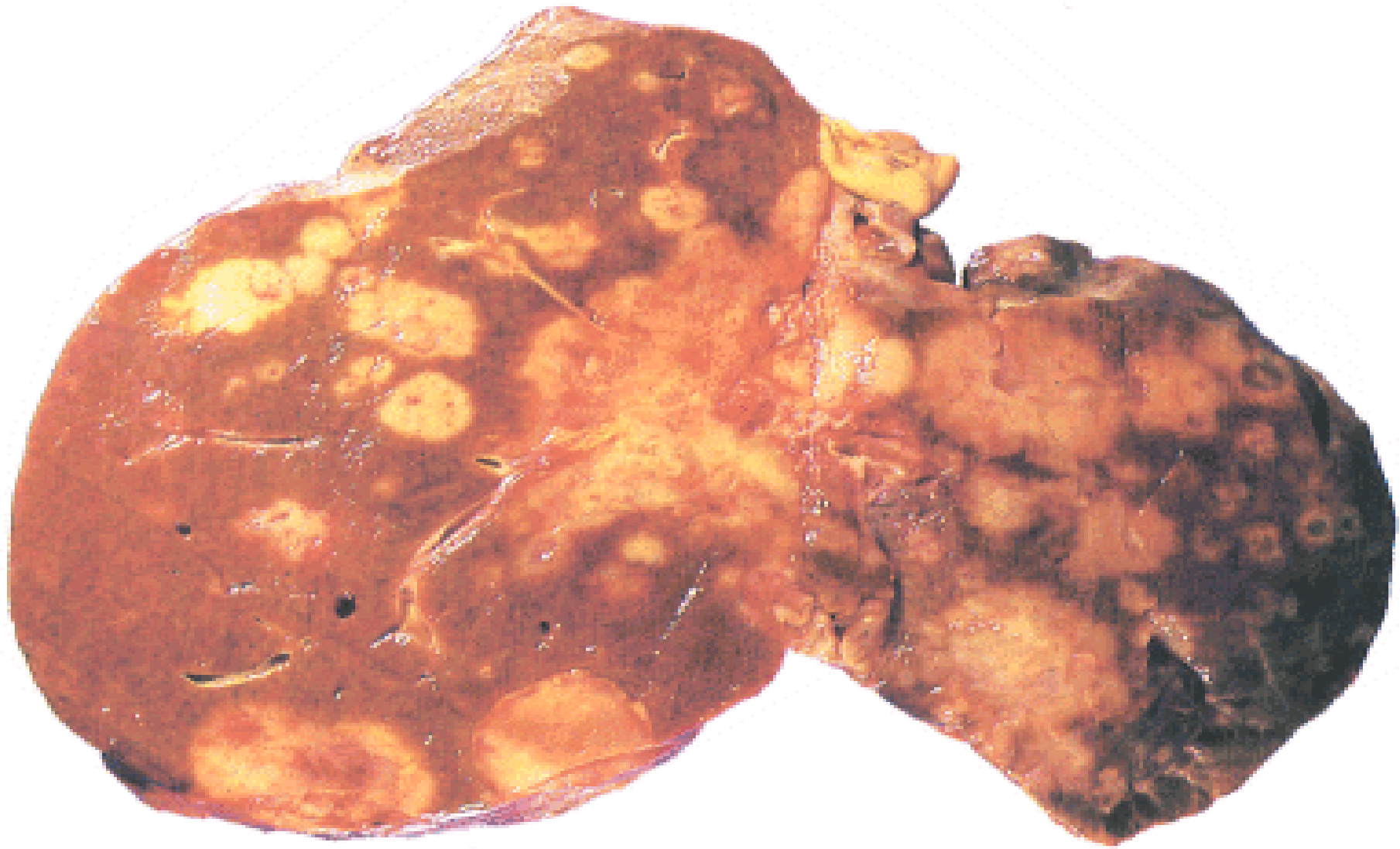


Polyp

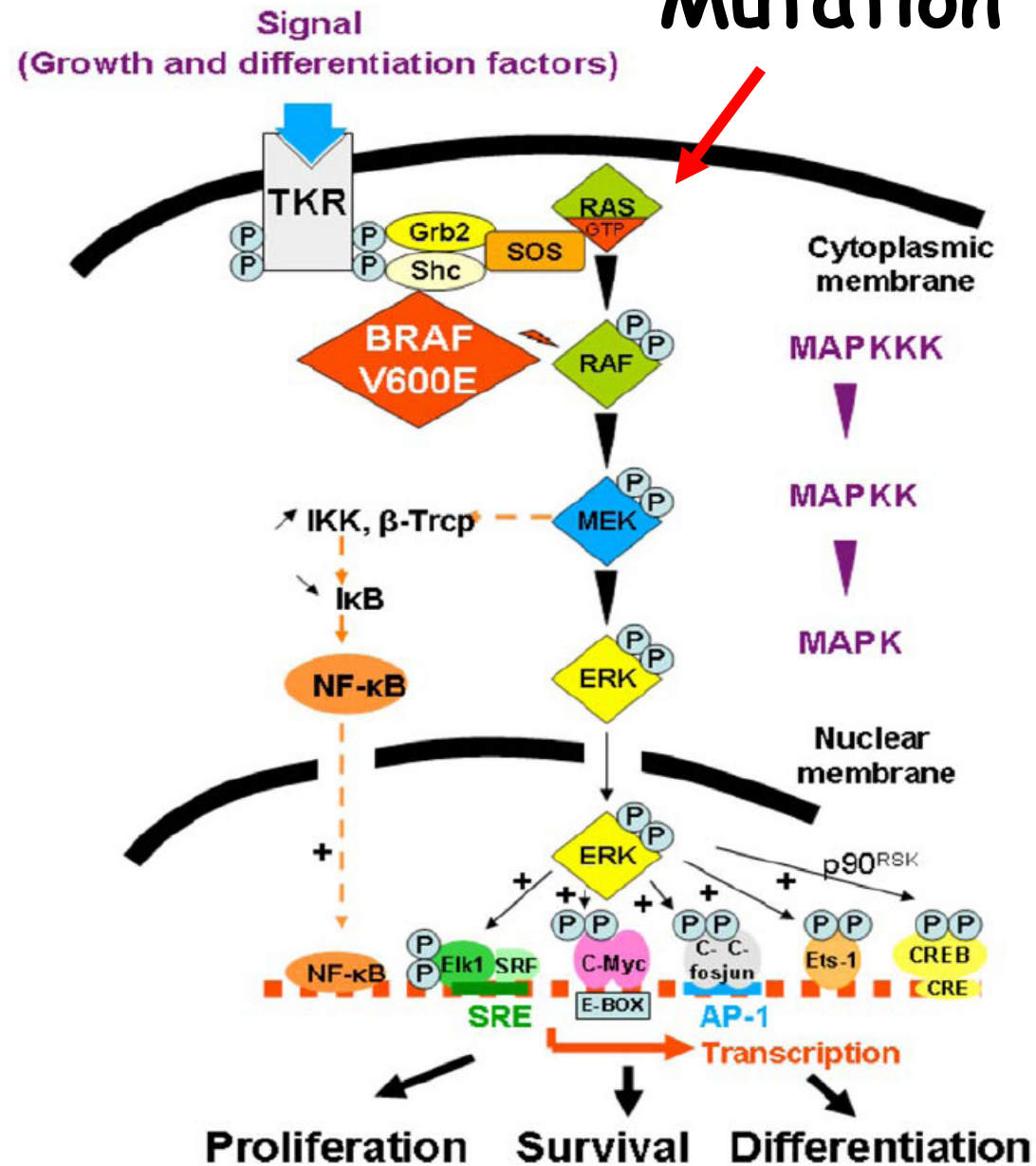
Polyp

Cancer

# Liver Cancer



# Mutation de KRAS



# Les biomarqueurs en routine

- La multiplicité des biomarqueurs !
- L'objectif d'un biomarqueur
- Le choix actuel « acquis » en oncologie thoracique



Biomarqueur diagnostic

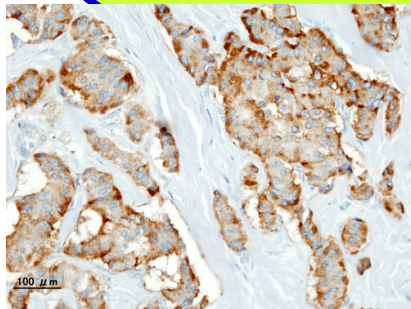
Biomarqueur pronostic

Biomarqueur théranostic



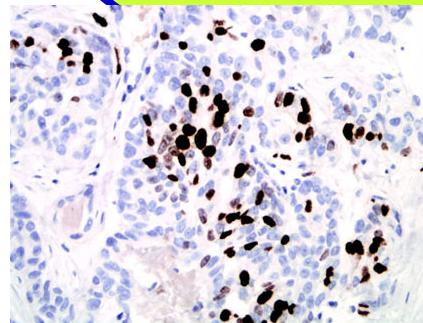
Biomarqueur diagnostic

*Ex: Chromogranine A*



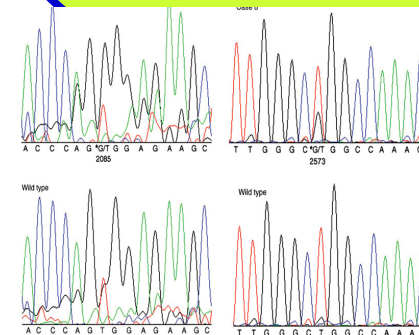
Biomarqueur pronostic

*Ex: Ki 67*

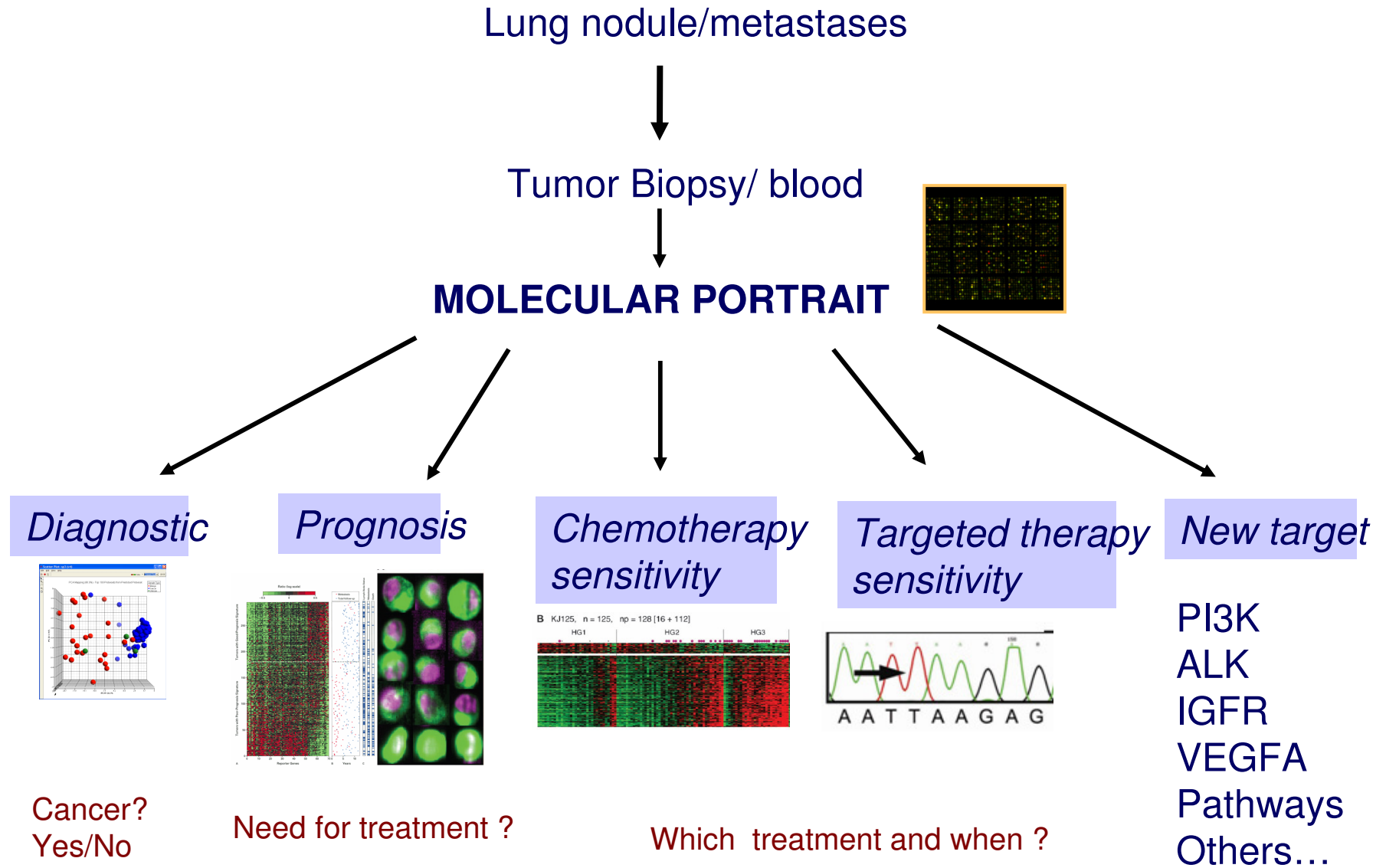


Biomarqueur théranostic

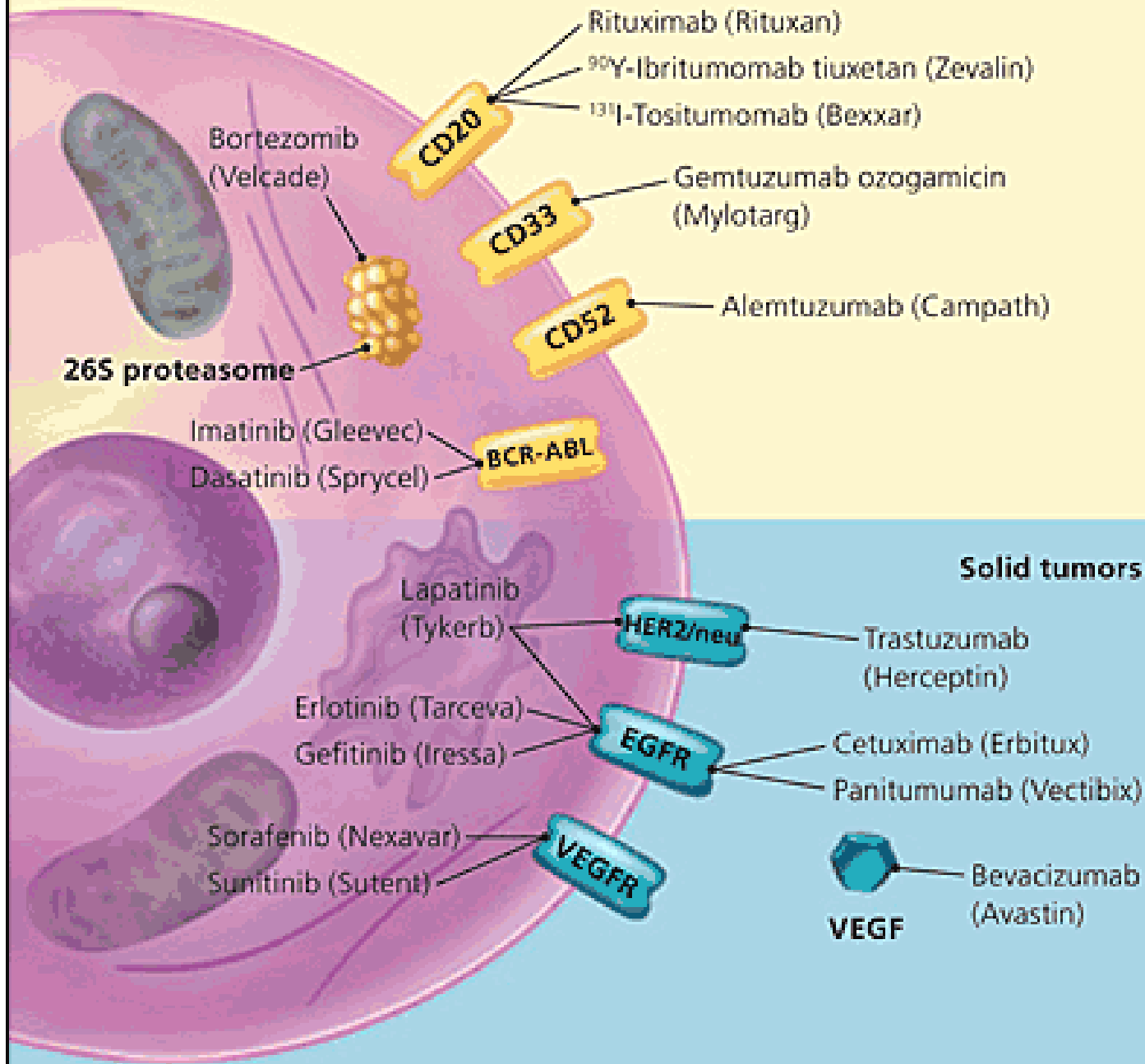
*Ex: Mutation L858R*



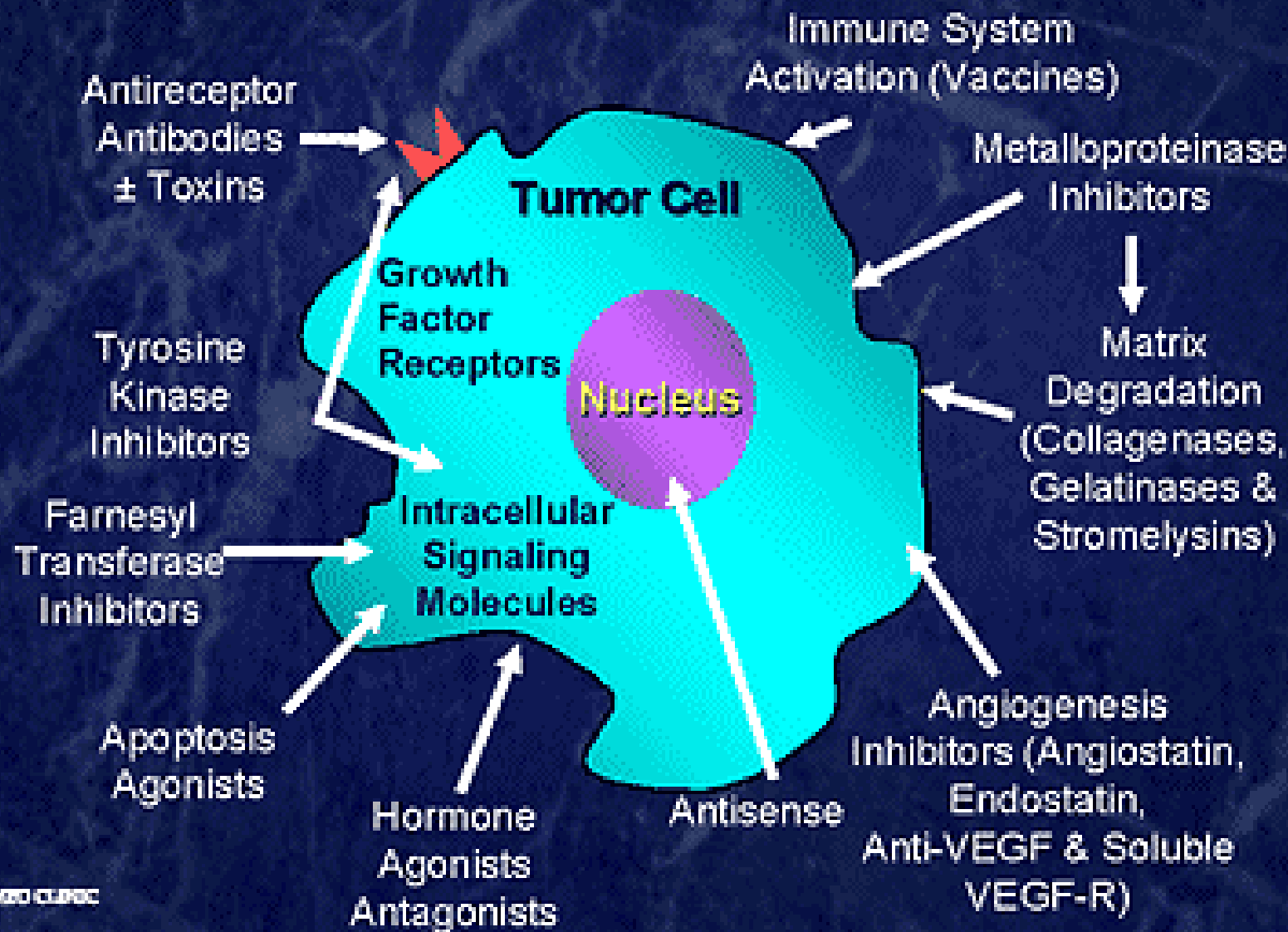
# Lung Cancer Patient in the near future



## Hematologic malignancies



# Targeted Cancer Therapies



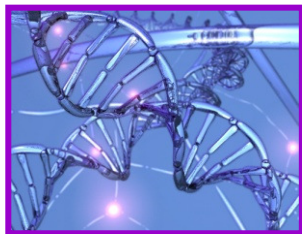
*NCBI PubMed  
(22 01 2011)*

« Biomarkers and lung cancer »

**13 930 citations**

**Marqueurs tissulaires** (protéines, ARN, ADN, microARN)

**Marqueurs sanguins** (ARN libre, ADN libre, microARN, CTC, cellules endothéliales circulantes, protéines, microparticules)



*Mutations et réarrangements*

**What's Wrong with Biomarkers?**



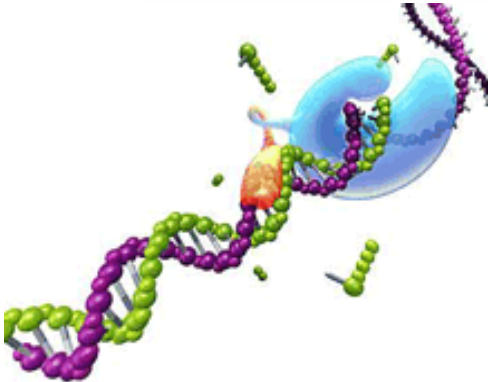
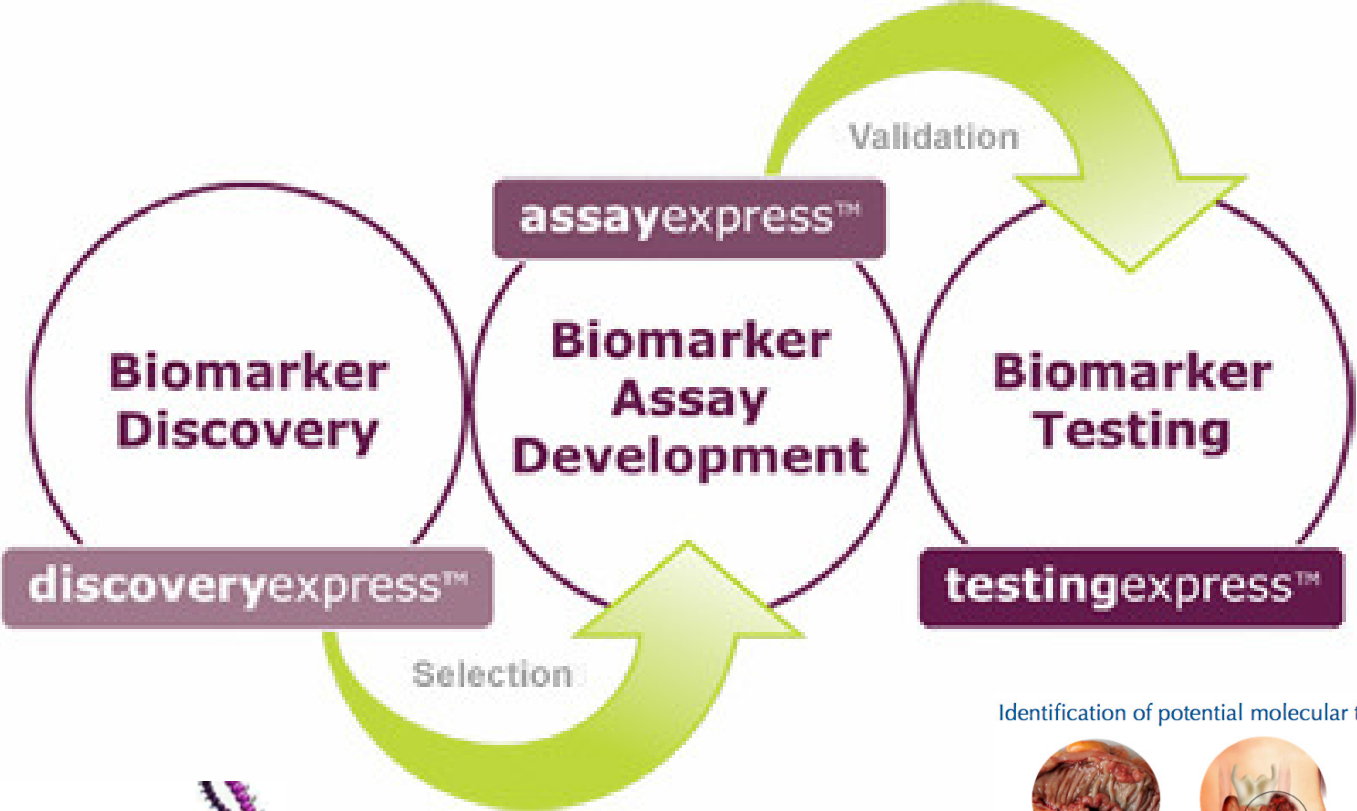
By John Russell, Contributing Editor, Efo-IT World

Produced by Cambridge Healthtech  
Medis Group Custom Publishing

**DEFINIENS**  
Understanding Images

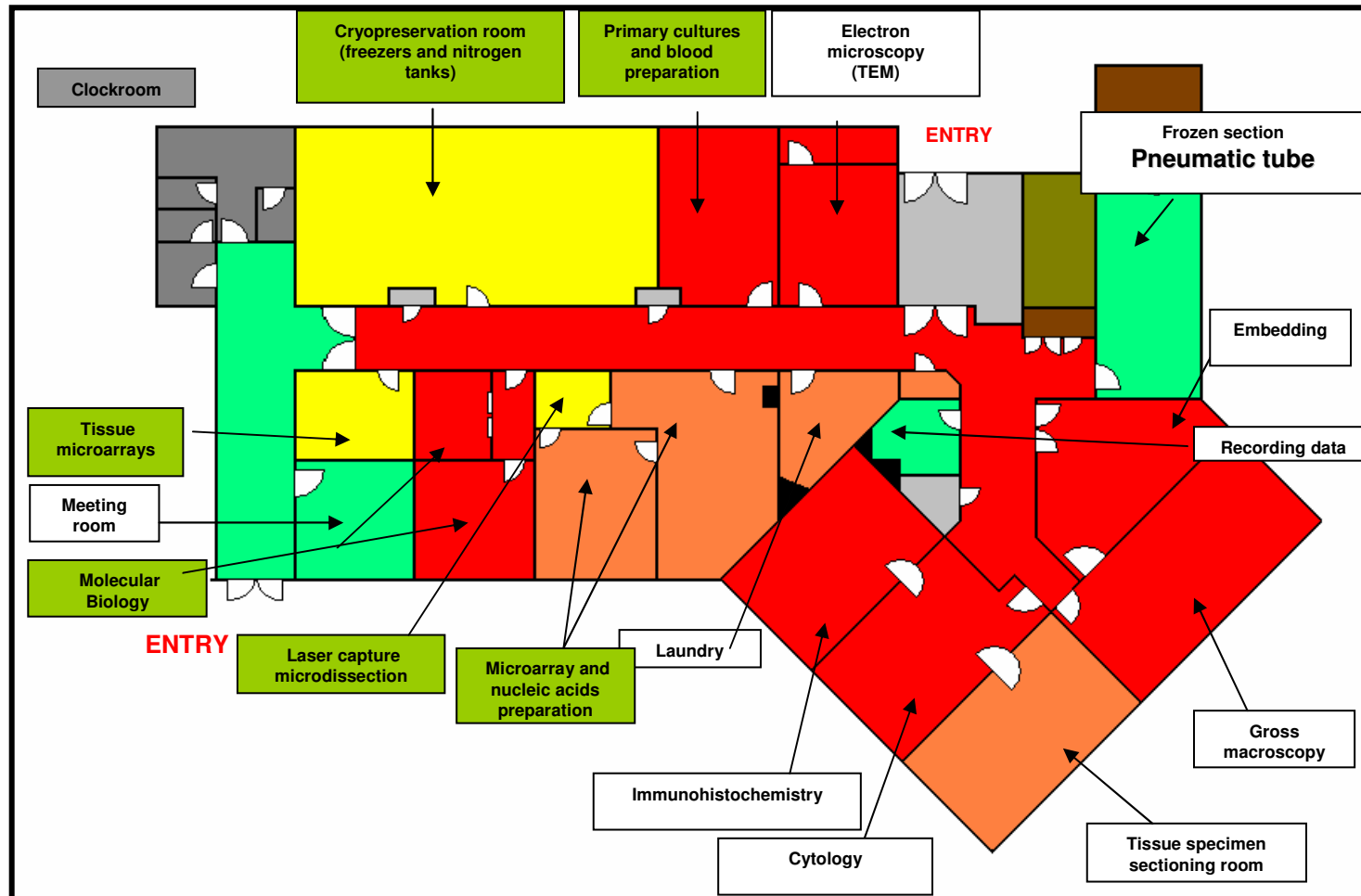
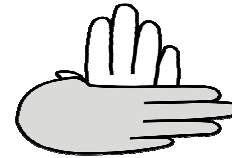
[www.definiens.com](http://www.definiens.com)

# Des étapes à respecter, à maîtriser et surtout à contrôler



Identification of potential molecular targets in:

- Colon cancer
- Thyroid cancer
- Prostate cancer
- Pancreas cancer
- Lymphoma
- Glioma
- Liver metastases
- Lung metastases
- Bone metastases



Une architecture « groupée »



L'optimisation des procédures

CENTRE HOSPITALIER  
UNIVERSITAIRE de NICE

**Unité Fonctionnelle de Pathologie Moléculaire**

Laboratoire de Pathologie Clinique et Expérimentale - Responsable : Pr P. HOFMAN  
Hôpital Pasteur - Pavillon J - 30 avenue de la voie Romaine - BP 69 - 06002 NICE cedex 1  
Tel. 04.92.03.88.55 - Fax 04 92 03 87 50



N° Hosp. : **LM 09.360**  
PATIENT : **DUPONT Albert \***  
Nom J.F. : **CHIR THORACIQUE HC PAV H RDC**  
Né(e) le : **10/10/1940** UF 2441  
Sexe : **M**  
Presc. : **CHIR THORACIQUE HC PAV H RDC** HOPITAL PASTEUR  
Doubles : **06300 NICE**

Examen reçu le : 21/12/2009

ANTERIORITES : NEANT

LA

**DETECTION DES MUTATIONS SOMATIQUES DU GENE EGFR**

Date du prélèvement : 21/12/2009  
Date de la demande : 24/12/2009  
Date de réception de l'échantillon : 28/12/2009

Examen réalisé : 11/01/2010  
Nature de l'échantillon : Pièce opératoire  
Diagnostic histologique (Classification OMS) : adénocarcinome sous type mixte  
Pourcentage de cellules tumorales : Compris entre 20 % et 50 %  
Conditionnement de l'échantillon : Congélation

**TECHNIQUES UTILISEES**

- **Extraction d'ADN** : après broyage mécanique Vibrobroyeur et par technique robotisée MagnaPure (Roche)
- **Quantité de l'ADN. Concentration** : 0,2 µg/µl : dosage au spectrophotomètre (Nanodrop ND (1000))
- **Qualité de l'ADN** : vérification par amplification par PCR du gène GAPDH
- **Biologie moléculaire** :  
Technique de séquençage direct sur séquenceur 370 Applied Biosystems (kit Big Dye terminator Applied Biosystems (ref 4336774)), après amplification par PCR à l'aide de la taq polymerase Invitrogen (ref 10966-034) des exons 18, 19, 20 et 21 du gène EGFR

**RESULTATS**

- **Présence d'une mutation du gène EGFR sur l'exon 19 (E746-A750)**  
Résultat obtenu sur 2 analyses indépendantes réalisées à partir de 2 extractions d'ADN distinctes (Contrôle intra laboratoire)

Virginie GAVRIC-TANCA  
Ingénieur Secteur pré-analytique

Dr Véronique HOFMAN  
Médecin responsable de la pathologie concernée

Virginie LESPINET,  
Ingénieur Secteur analytique

Pasteur

Le 14/01/2010 Professeur P. HOFMAN

ADICAP : OYRPA7V0

**\*Identification factice à titre d'exemple**


**Formaliser impérativement  
les activités**

**BIOBANK LPCE**


Fichier Edition Affichage Favoris Outils ?

Précédente Recherche Favoris

Adresse <https://extranet.chu-nice.fr/prod-tumo/prod-tumo-fr/> OK Liens



**BIOBANK LPCE**  
Quality Management Tissue



**Accueil**

- Accueil
- Centre Ressources Biologiques
- Catalogue des échantillons
- Cession et Consentement
- Publications
- Annuaire
- Nouvelles
- Foire aux questions

**Contact...**

- Contacter le Pr. Hofman
- Contacter Mr Selva

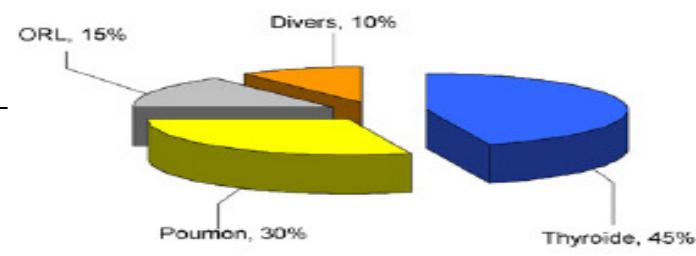
**Recherche**

Recherche

**La tumorothèque niçoise a vu le jour en septembre 2004.**

La tumorothèque commune CHU-CLCC Centre Antoine Lacassagne est intégrée dans les locaux d'un Laboratoire de Pathologie, le Laboratoire de Pathologie Clinique et Expérimentale (LPCE) du CHU de Nice, ce qui permet la gestion optimale des échantillons stockés. La tissuthèque tumorale et non tumorale CHU-CAL-UNSA est orientée sur des collections très ciblées (pathologie pleuro-pulmonaire, thyroïdienne, ORL, digestive et mammaire). Depuis octobre 2006, nous avons activé sur ces collections, une plasmathèque, une sérothèque, une cellulothèque (cultures primaires) et une collection d'ADN constitutionnel.

*Pr. Paul HOFMAN*



Catégorie	Pourcentage
Thyroïde	45%
Poumon	30%
ORL	15%
Divers	10%

La tumorothèque-tissuthèque du site niçois a été labellisée Centre de Ressources Biologiques par l'INSERM en 2007.

Inserm

(dernière maj 01/05/2009)  
(prochaine maj 01/01/2010)


**Nouvelles**

**Labellisation IBiSA**  
La Tumorothèque CHU-CAL-UNSA de Nice a reçu la labellisation IBiSA...

**Meeting Ventana Servier :Molecular Histopathology and its role in predic...**  
La tumorothèque CHU-CAL a été présentée lors d'un meeting international organisé à Paris réunissant les ...

**Liens Utiles**

- biobank-paca.com
- canceropole-paca.fr
- e-cancer.fr
- edbio.ipmc.cnrs.fr
- ifr50.fr
- paca.inserm.fr
- bir.inserm.fr
- chu-nice.fr
- CAL de Nice



Intranet local

démarrer

Boîte de réce...

Presentation

Microsoft Po...

Bienvenue su...

Tumorothèqu...

14:30

<http://www.biobank06.com>



**Secteur Pathologiste**

**Secrétariat**                      **Entretien**

**Secteur technique**

**Cadre**                      **Histologie – Cytologie – Immunohistochimie**

**Secteur Tumorothèque Développement**

**Biologie Moléculaire – Biopuces à ADN**                      **Tissu Microarrays**

**Secteur Tumorothèque**                      **Ingénieur qualité**

**Biobank**                      **Bioinformatique**                      **Microdissection Laser**

2007  
-  
2008

## Marius ILIE

- Doctorat en médecine
- Conseil de l'Ordre Alpes Maritimes
- Formation en Anatomopathologie
- LPCE, Bourse de l'Agence Universitaire de la Francophonie

2008  
-  
2009

- Master 2 SV  
« Génétique, Développement et Immunité »  
Université de Nice Sophia Antipolis, Nice  
Bourse de l'Institut National du Cancer

2009  
-  
2010

- Thèse d'Université  
« Biologie Moléculaire et Cellulaire »  
Université de Nice Sophia Antipolis, Nice
- DIU de Pathologie Moléculaire
- Praticien Attaché Contractuel, CHU de Nice



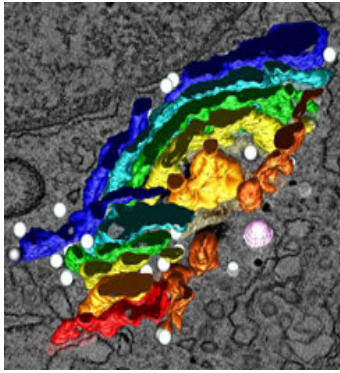
# The Biobank06 Team, Nice University, France



# Plan du cours

- De «l'anatomo-pathologie» à la «pathologie moléculaire»
- Les buts de la pathologie moléculaire
- Exemple pour le diagnostic
- Exemple pour le pronostic
- Intérêt pour le ciblage thérapeutique à l'aide de quelques exemples
- **Programme des cours en pathologie moléculaire**

- Pathologie moléculaire du cancer du poumon
  - Dr Véronique Hofman
- Pathologie moléculaire de la thyroïde
  - Dr Sandra Lassalle
- Pathologie moléculaire du mélanome
  - Dr Elodie Long
- Pathologie moléculaire du colon
  - Dr Ionut M Ilie



LPCE  
BIOBANK  
Quality Management Tissue



CHU de Nice

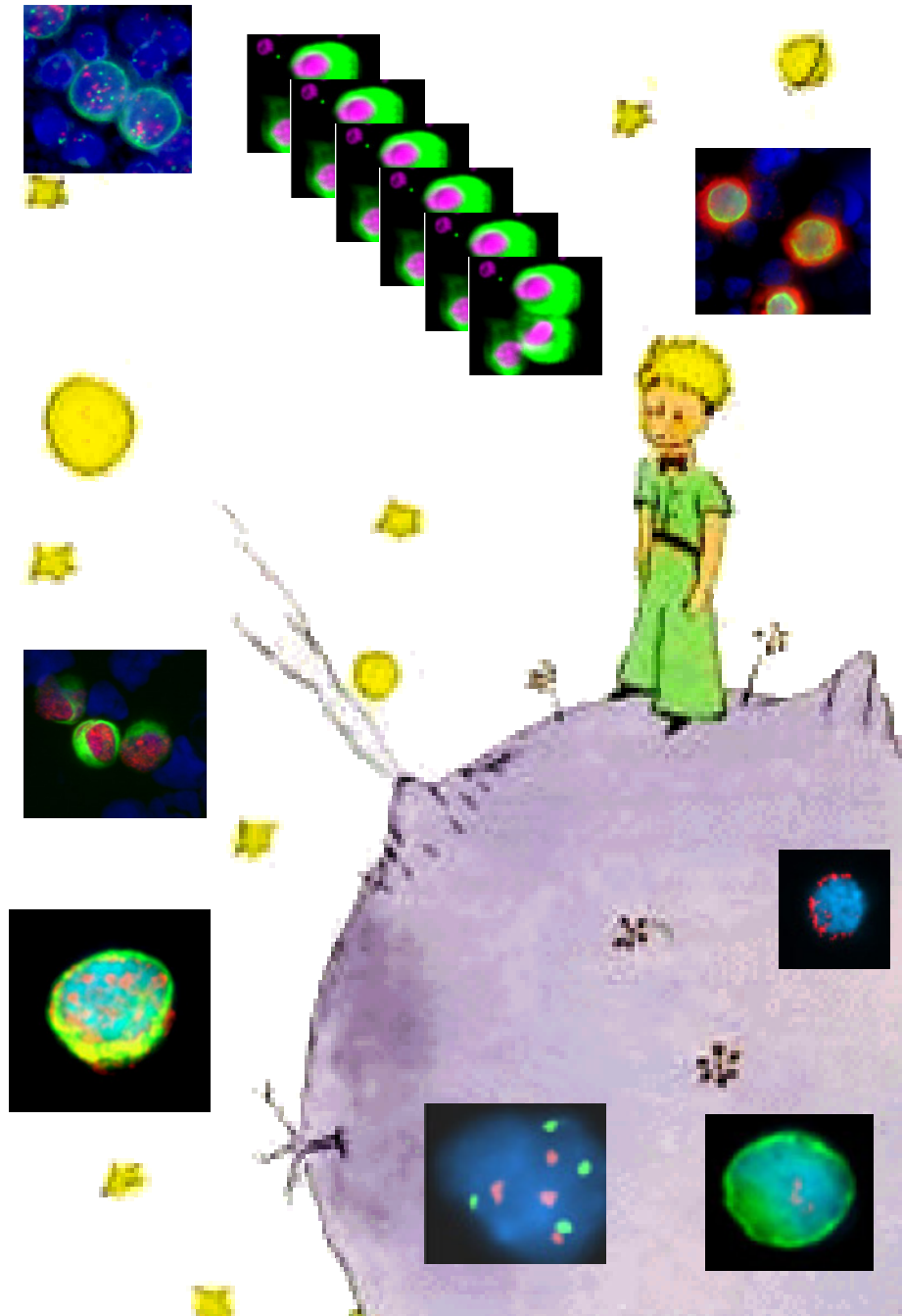
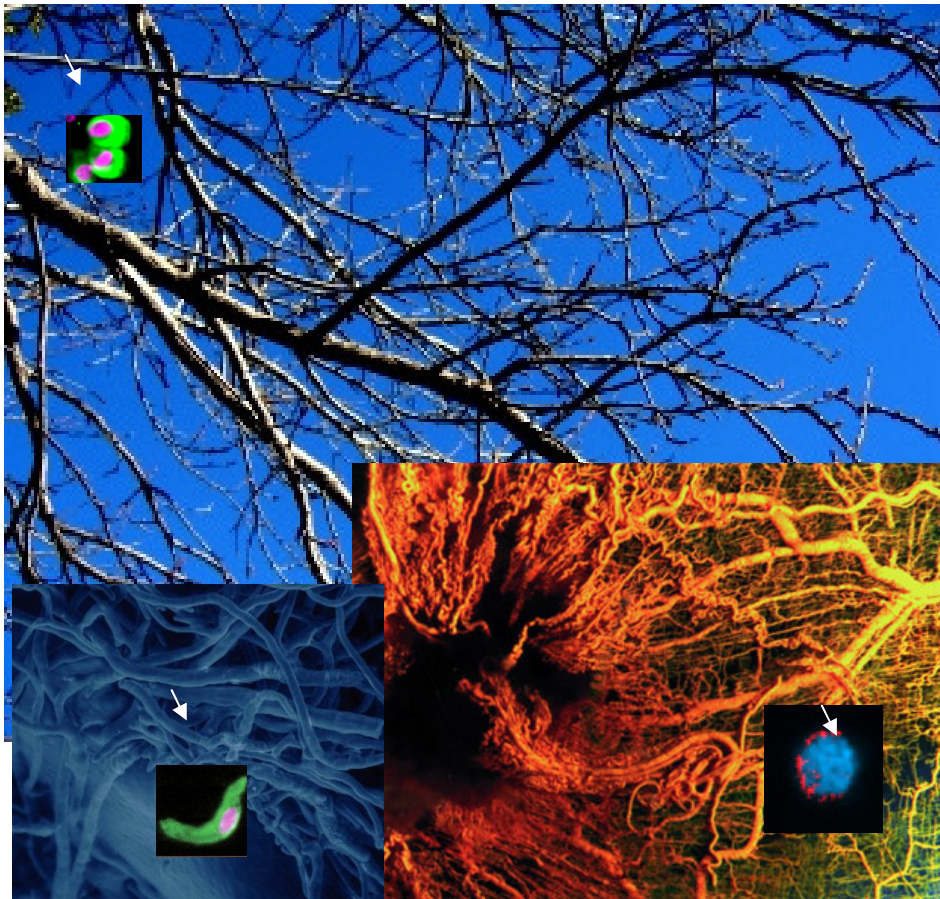
*From surgical pathology to molecular pathology*



hofman.p@chu-nice.fr  
[www.biobank06.com](http://www.biobank06.com)

*Les choses les plus importantes  
sont souvent invisibles*

*Antoine de Saint-Exupéry*



# Questions



# Question 1

Que signifie le mot  
« théranostic » ?

## Question 2

Quelle est la mutation à rechercher actuellement dans le cancer du poumon d'une façon obligatoire ?

## Question 3

Quelle est la mutation à rechercher actuellement dans le mélanome malin métastatique ?

## Question 4

Quelles sont les techniques principales pour rechercher des mutations dans les tumeurs ?

## Question 5

Qu'appelle t-on thérapeutique ciblée ?  
Donnez un synonyme

## Question 6

Donnez la définition d'un mélanome

## Question 7

Quel facteur prédisposant doit-on rechercher à l'interrogatoire devant tout cancer de la thyroïde ?

## Question 8

Quel est la mutation à rechercher dans un cancer du colon ?

## Question 9

**Citez un cancer familial**

## Question 10

A partir de quels prélèvements humains peut-on rechercher des mutations ?

# Keep the faith and the pressure !

Soyez comme les canards:

En surface

**AYEZ L'AIR CALME ET POSÉ**



Sous la surface

**PÉDALEZ COMME UN FOU**