

Mutations du gène *ESR1* : du fondamental à la clinique

ESR1 Mutations: From Benchside to Bedside

V. Massard · A. Harlé · L. Uwer · J.-L. Merlin

Reçu le 10 octobre 2017 ; accepté le 29 avril 2019
© Lavoisier SAS 2019

Résumé L'hormonorésistance acquise constitue l'un des défis majeurs dans le traitement du cancer du sein avancé exprimant le récepteur aux estrogènes (RE) et sans surexpression de HER2. Les mutations activatrices du gène *ESR1* affectant le domaine de liaison du ligand ont récemment été identifiées comme l'un des principaux mécanismes de résistance aux inhibiteurs de l'aromatase (IA). Ces mutations peuvent être recherchées sur des prélèvements histologiques ou sur ADN tumoral circulant, par PCR ou séquençage de nouvelle génération (NGS). Elles induisent une activation constitutionnelle du RE conduisant à une résistance acquise aux IA ; le tamoxifène, le fulvestrant et les thérapies ciblées anti-mTOR ou anti-CDK4/6 conservent leur efficacité. La place en pratique clinique de la détection des mutations du gène *ESR1* reste encore à définir.

Mots clés Mutations du gène *ESR1* · Hormonorésistance · Inhibiteurs de l'aromatase · ADN tumoral circulant

Abstract Acquired endocrine resistance remains one of the main obstacles in the treatment of estrogen receptor (ER) positive, HER2 negative advanced breast cancer. Recently, activating *ESR1* gene mutations affecting the ligand-binding domain have been identified as a key mechanism in aromatase inhibitor (AI) resistance. These mutations can be detected on histological samples or circulating tumour DNA, using PCR-based assays or next-generation sequencing. They induce a constitutive activation of ER, leading to acquired resistance to AI; tamoxifen, fulvestrant and targeted therapies against

mTOR or CDK4/6 retain their efficacy. The use of monitoring *ESR1* mutations in clinical practice is still to be defined.

Keywords *ESR1* mutations · Endocrine resistance · Aromatase inhibitors · Circulating tumour DNA

Introduction

L'hormonodépendance des cancers du sein fut initialement décrite à la fin du XIX^e siècle, notamment lors de la publication en 1896 des observations de George Beatson de la régression de cancers mammaires après la réalisation d'ovariectomies bilatérales [1].

Près des trois quarts des carcinomes mammaires expriment le récepteur aux estrogènes (RE), une protéine nucléaire fonctionnant comme un facteur de transcription dépendant de son ligand, et sont définis comme hormonodépendants. Le RE est constitué de deux domaines d'activation transcriptionnelle, d'un domaine de liaison du ligand, d'un domaine de liaison à l'ADN et d'un domaine charnière. Le rôle du RE, codé par le gène *ESR1*, dans le développement de la glande mammaire et son implication dans la progression des carcinomes mammaires sont bien établis [2].

L'hormonothérapie ciblant les RE, soit directement par les inhibiteurs sélectifs des RE qui constituent des antagonistes purs (fulvestrant) ou les modulateurs sélectifs des RE (tamoxifène), soit indirectement par les inhibiteurs de l'aromatase (IA) qui bloquent la synthèse des estrogènes périphériques, constitue l'un des principaux traitements des cancers du sein hormonodépendants au stade adjuvant et métastatique.

L'hormonorésistance, intrinsèque (*de novo*) ou acquise, représente un défi majeur dans la prise en charge des carcinomes mammaires, et l'implication de mécanismes multiples est suspectée dans son émergence.

Le gène *ESR1*

Le gène *ESR1* peut faire l'objet de différentes anomalies génomiques : amplifications géniques, réarrangements

V. Massard (✉) · L. Uwer
Département d'oncologie médicale,
Institut de cancérologie de Lorraine,
F-54519 Vandoeuvre-les-Nancy France
e-mail : v.massard@nancy.unicancer.fr

A. Harlé · J.-L. Merlin (✉)
Service de biopathologie,
Institut de cancérologie de Lorraine,
UMR CNRS 7039 CRAN, université de Lorraine, France
e-mail : jl.merlin@nancy.unicancer.fr

génomiques ou mutations ponctuelles faux sens. Au nombre de celles-ci, les mutations ponctuelles faux sens activatrices du gène *ESR1*, affectant le domaine de liaison du ligand, ont récemment été décrites comme l'un des mécanismes clés impliqués dans la résistance aux IA, et la suite de cet article s'intéresse spécifiquement à ces mutations. Elles ne sont qu'exceptionnellement détectées lors du diagnostic du carcinome mammaire et pourraient soit être issues de la sélection d'un clone préexistant initialement indétectable chez le patient naïf de tout traitement, soit être acquises *de novo* durant le traitement par les IA [2].

Plusieurs *hotspots* mutationnels ont été identifiés au sein du domaine de liaison du ligand, mais des mutations peuvent survenir sur l'ensemble de sa séquence. Ces mutations conduisent à une activation indépendante du ligand du RE et ainsi à une résistance aux IA. Cependant, le tamoxifène, le fulvestrant et les thérapies ciblées anti-mTOR ou anti-CDK4/6 restent potentiellement efficaces chez les patients présentant de telles mutations.

Méthode de détection des mutations du gène *ESR1*

Les mutations du gène *ESR1* peuvent être détectées à partir de prélèvements tissulaires ou de biopsies liquides, ces dernières reposant sur l'analyse de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) plasmatique, c'est-à-dire de l'ADN libéré dans la circulation sanguine par les cellules tumorales, ou de l'ADN extrait de cellules tumorales circulantes.

L'ADNtc constitue le support privilégié du fait de sa non-invasivité, de sa répétition possible et de son reflet de l'hétérogénéité tumorale.

Différentes techniques sont décrites pour la détection de mutations à partir de l'ADNtc [3]. D'une part, les techniques fondées sur la digital PCR, à l'heure actuelle principalement *droplet digital polymerase chain reaction* (ddPCR) et BEAMing, permettent la détection d'une ou de plusieurs mutations ciblées, avec une sensibilité élevée autorisant la mise en évidence de mutations de faible fréquence allélique (jusqu'à 0,01 %). Le faible coût et la rapidité de ces techniques constituent également des avantages.

D'autre part, le séquençage de nouvelle génération (NGS) permet la détection de l'ensemble des mutations des régions amplifiées. La sensibilité analytique du NGS, historiquement au-delà des 1 % de fréquence allélique, a été considérablement améliorée par les techniques comme le CAPPSeq, le TAMSeq ou encore le TECSeq. Ainsi, le séquençage à de très fortes profondeurs (souvent au-delà de 20,000×) associé à l'utilisation d'identifiants moléculaires uniques permet la détection de variants de fréquences alléliques inférieures à 0,01 %, ce qui est comparable à celle de la ddPCR [4].

Récemment, Toy et al. ont identifié, en employant le NGS sur prélèvements histologiques fixés, des mutations du gène *ESR1* chez 74 patients parmi 274, présentant un cancer du sein métastatique, prétraités par IA. Dans cette étude, l'emploi du NGS permettait l'identification de nouvelles mutations activatrices du gène *ESR1* [5].

Au congrès sur le cancer du sein de San Antonio de 2016, Spoerke et al. ont rapporté la mise en évidence de mutations sur l'ensemble de la séquence du domaine de liaison du ligand, bien que dix mutations affectant les acides aminés aux positions 380, 463, 536, 537, et 538 représentaient 86 % de l'ensemble des mutations du gène *ESR1*, au niveau des métastases de cancers du sein exprimant le RE et HER2 négatifs étudiés. Ils décrivaient également une association entre mutations du gène *ESR1* et autres mutations cliniquement significatives, telles les mutations du gène *PIK3CA*. Dans une seconde cohorte, l'emploi conjoint du NGS et du BEAMing permettait la détection de mutations du gène *ESR1* parmi 19 des 48 prélèvements, avec une concordance de 100 % concernant le statut mutationnel (sauvage vs muté) [6].

Fréquence des mutations du gène *ESR1*

Les mutations du gène *ESR1* ne sont que rarement identifiées au stade initial de la prise en charge des carcinomes mammaires ; elles ne sont ainsi décrites que dans moins de 1 % des profils mutationnels de cancer du sein localisé dans la base de données The Cancer Genome Atlas.

En revanche, au sein d'études rétrospectives larges, les mutations du gène *ESR1* affectent jusqu'à 39 % des cancers du sein métastatiques exprimant le RE et résistants aux IA.

Au sein d'une analyse secondaire concernant la population de l'essai clinique BOLERO-2, la prévalence de deux des mutations du gène *ESR1* les plus fréquentes, Y537S et D538G, a été déterminée à partir de l'ADNtc prélevé au début de l'étude en utilisant les techniques de ddPCR. Sur 541 patients, 156, soit 28,8 %, présentaient au moins l'une des deux mutations, dont 30 ayant les deux [7].

Dans une analyse rétrospective, sept mutations du gène *ESR1* fréquentes (E380Q, S463P, L536R, Y537C/N/S, D538G) ont été recherchées par technique ddPCR à partir du plasma prélevé au début des études cliniques SoFEA (Study of Faslodex versus Exemestane with or without Arimidex) et PALOMA-3 (Palbociclib Combined with Fulvestrant in Hormone Receptor-Positive HER2-Negative Metastatic Breast Cancer after Endocrine Failure). Des mutations du gène *ESR1* ont été mises en évidence chez 63 des 161 patients (39,1 %) de l'étude SoFEA et 91 des 360 patients (25,3 %) de l'étude PALOMA-3 [8].

Au sein d'une analyse rétrospective par BEAMing sur le plasma prélevé au début de l'étude clinique FERGI, 57 des 153 patients, soit 37,3 %, présentaient au moins une parmi

un panel de 12 mutations du gène *ESR1* (E380Q, S463P, V524E, P535H, L536H/P/Q/R, Y537C/N/S, D538G) [9].

Multiplicité des mécanismes de résistance

Dans le but d'explorer l'évolution génomique des cancers du sein métastatiques sous l'influence des thérapeutiques systémiques, l'analyse par NGS de 468 gènes associés au cancer sur des prélèvements tumoraux obtenus après progression durant au moins une ligne d'hormonothérapie a été réalisée chez 692 patients dans une étude menée au Memorial Sloan-Kettering Cancer Center à New York. Outre les mutations du gène *ESR1* (18 % des cas), des mutations affectant des gènes de la voie de signalisation *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), notamment *ERBB2* et *NF1*, et des gènes impliqués dans la régulation transcriptionnelle du RE, notamment *MYC*, *FOXA1*, *TBX3*, et *CTCF*, ont été mises en évidence respectivement dans 13 et 9 % des cas. Ces différentes mutations étaient mutuellement exclusives et associées à une durée de réponse inférieure aux lignes thérapeutiques ultérieures [10].

Impact sur l'efficacité des thérapeutiques

La présence de mutations activatrices du gène *ESR1* impacte directement l'efficacité des IA, générant par le biais de l'activation constitutionnelle du RE une résistance acquise aux IA. L'impact sur les autres classes thérapeutiques est moins significatif, mais la présence de mutations du gène *ESR1* est de mauvais pronostic et est associée à une survie globale inférieure [11].

Fulvestrant

Le mécanisme d'action du fulvestrant repose sur la dégradation du RE, et le fulvestrant conserve donc son efficacité même en cas d'activation constitutionnelle du RE. Les études *in vivo* révèlent cependant une résistance relative au fulvestrant conférée par les mutations du gène *ESR1*, l'inhibition étant restaurée à des doses supérieures [2].

Les patientes de l'étude SoFEA présentant une mutation du gène *ESR1* bénéficiaient d'une survie sans progression supérieure à 5,7 mois avec le fulvestrant contre 2,6 mois avec l'exémestane (HR = 0,52 ; IC 95 % : [0,30–0,92], $p = 0,02$), alors qu'il n'existait pas de différence de survie entre les deux traitements chez les patientes non porteuses d'une mutation [8].

Dans l'étude FERGI, évaluant l'efficacité du fulvestrant en association à un pan-inhibiteur de PI3K dans le cancer du sein métastatique en progression après une première ligne

d'hormonothérapie par IA, il n'existait pas de différence significative de survie sans progression selon la présence ou non d'une mutation du gène *ESR1* [9].

Tamoxifène

De façon semblable au fulvestrant, les études *in vitro* révèlent une résistance relative au tamoxifène s'amendant lors de la majoration des doses [2].

Il n'existe que peu de données cliniques sur l'efficacité du tamoxifène en cas de mutations du gène *ESR1* ; cependant, celles-ci ne sont que rarement identifiées chez des patientes précédemment traitées par tamoxifène, ce qui suggère principalement une résistance aux IA [8].

Inhibiteur de mTOR

Au sein de la population de l'étude de phase III BOLERO-2, qui a démontré un allongement significatif de la survie sans progression lors de l'association de l'évérolimus à l'exémestane après une première ligne d'hormonothérapie par IA, il existait également un bénéfice à l'adjonction de l'évérolimus pour les patientes porteuses de mutations du gène *ESR1* [7].

Inhibiteurs de CDK4/6

Au sein de l'étude PALOMA-3, le bénéfice observé lors de l'adjonction du palbociclib au fulvestrant après une première ligne d'hormonothérapie par IA existait quel que soit le statut mutationnel du gène *ESR1*.

L'impact de l'association d'emblée d'un IA et d'un inhibiteur de CDK4/6 sur l'émergence des mutations du gène *ESR1* est encore incertain, mais des premières données suggèrent l'absence de prévention de leur émergence [8].

Chimiothérapie

L'impact des mutations du gène *ESR1* sur l'efficacité de la chimiothérapie est méconnu. Dans une étude rétrospective portant sur 58 patients recevant de la chimiothérapie après progression sous une première ligne de traitement par IA, Clatot et al. ont décrit une survie globale (16 mois versus 27 ; HR = 2,0, IC 95 % : [1,01–4,0], $p = 0,014$) et une survie sans progression (7 mois versus 9 ; HR = 1,9, IC 95 % : [1,01–3,6], $p = 0,009$) significativement inférieures en cas de présence de mutations [11].

Demain, quelles stratégies retenir ?

À l'heure actuelle, il n'existe pas encore de place validée de la détection des mutations du gène *ESR1* en pratique courante. La connaissance du statut mutationnel du gène *ESR1* pourrait cependant permettre de guider les stratégies thérapeutiques.

L'intérêt d'un monitoring régulier des mutations du gène *ESR1* en cours d'hormonothérapie par IA, associée ou non à une thérapie ciblée, reste incertain pour l'heure ; un tel monitoring permettrait l'adaptation précoce de l'hormonothérapie dès l'apparition d'une mutation du gène *ESR1*. Au sein d'une cohorte de 144 patients, Clatot *et al.* ont en effet démontré la possibilité de détecter, dans 75 % des cas où elles surviennent, les mutations du gène *ESR1* au moins trois mois avant la progression sous IA [11]. Cette stratégie est en cours d'investigation [12].

Par ailleurs, de nouvelles hormonothérapies efficaces sur les clones porteurs de mutations du gène *ESR1* sont également en développement [13].

Liens d'intérêts : Vincent Massard déclare le financement d'expertises par Astra Zeneca, Novartis, Pfizer.

Références

1. Beatson G (1896) On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment, with illustrative cases. *Lancet* 148:162–5
2. Jeselsohn R, Buchwalter G, De Angelis C, et al (2015) *ESR1* mutations — a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 12:573–83
3. Ignatiadis M, Dawson SJ (2014) Circulating tumor cells and circulating tumor DNA for precision medicine: dream or reality? *Ann Oncol* 25:2304–13
4. Masunaga N, Kagara N, Motooka D, et al (2018) Highly sensitive detection of *ESR1* mutations in cell-free DNA from patients with metastatic breast cancer using molecular barcode sequencing. *Breast Cancer Res Treat* 167:49–58. doi: 10.1007/s10549-017-4487-y. Epub 2017 Sep 13
5. Toy W, Weir H, Razavi P, et al (2017) Activating *ESR1* mutations differentially affect the efficacy of ER antagonists. *Cancer Discov* 7:277–87. doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-1523. Epub 2016 Dec 16
6. Spoeke J, Schleifman E, Clark T, et al (2017) Abstract P6-07-08: The complete spectrum of *ESR1* mutations from 7,590 breast cancer tumor samples. *Cancer Res* 77:P6-07-08-P6-07–8
7. Chandarlapaty S, Chen D, He W, et al (2016) Prevalence of *ESR1* mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 clinical trial. *JAMA Oncol* 2:1310–5
8. Friebens C, O'Leary B, Kilburn L, et al (2016) Plasma *ESR1* mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 34:2961–8
9. Spoeke JM, Gendreau S, Walter K, et al (2016) Heterogeneity and clinical significance of *ESR1* mutations in ER-positive metastatic breast cancer patients receiving fulvestrant. *Nat Commun* 7:11579
10. Razavi P, Chang MT, Xu G, et al (2018) The genomic landscape of endocrine-resistant advanced breast cancers. *Cancer Cell* 34:427–38.e6
11. Clatot F, Perdrix A, Augusto L, et al (2016) Kinetics, prognostic and predictive values of *ESR1* circulating mutations in metastatic breast cancer patients progressing on aromatase inhibitor. *Oncotarget* 7:74448–59
12. PALbociclib and circulating tumor DNA for *ESR1* mutation detection - Full Text View - ClinicalTrials.gov - NCT03079011 [Internet]. [cited 2017 Oct 8]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03079011?term=esr1&cond=breast+cancer&entry1=EU%3AFR&draw=1&rank=2>
13. Weir HM, Bradbury RH, Lawson M, et al (2016) AZD9496: an oral estrogen receptor inhibitor that blocks the growth of ER-positive and *ESR1*-mutant breast tumors in preclinical models. *Cancer Res* 76:3307–18