

**Projet : GIRONDE**  
**Comparaison de l'évaluation de l'index génomique en méthodologie Agilent/SurePrint G3 Human CGH microarray kit/CGH analytics V4.076 software versus Affymetrix/ Oncoscan CNV FFPE assay/ ChAs Software.**

<b>PROMOTEUR / GESTIONNAIRE</b>	Institut Bergonié
<b>INVESTIGATEUR COORDONNATEUR / PRINCIPAL</b>	<b>Dr SOUBEYRAN Isabelle, MD, PhD</b> <b>Dr LARMONIER Claire, PhD</b> Laboratoire de Pathologie Moléculaire Département de Biopathologie Institut Bergonié
<b>TITRE ET ACRONYME</b>	Transposition de l'évaluation de l'index génomique (GI) en technologie Agilent/SurePrint G3 Human CGH microarray kit/CGH analytics V4.076 software vers la technologie Affymetrix/ Oncoscan CNV FFPE assay/ ChAs Software. <b>ACRONYME : GIRONDE/ Génomique Index Resolution by ONcoscan Definition and Expertise</b>
<b>JUSTIFICATION / CONTEXTE</b>	<p>Le diagnostic et le pronostic d'une lésion cancéreuse reposent sur des critères cliniques et anatomopathologiques. Pour le diagnostic, dans les cas difficiles, nous disposons de technologies de screening moléculaire, permettant l'identification d'altérations moléculaires spécifiques ou caractéristiques du diagnostic. Ces données moléculaires peuvent permettre également d'orienter les choix thérapeutiques, en particulier vers des thérapies ciblées.</p> <p>Au-delà du diagnostic, il existe actuellement un intérêt croissant pour l'identification de signatures moléculaires d'intérêt pronostique et/ou prédictif, avec pour corollaire une prise en charge thérapeutique et un suivi adapté. C'est le cas d'un certain nombre de signatures d'expression génique par exemple dans le cancer du sein <sup>1</sup>, actuellement réalisées en routine et d'autres signatures en cours d'évaluation dans des essais cliniques <sup>2</sup>.</p> <p>Notre groupe a précédemment démontré l'intérêt diagnostique et pronostique de l'index génomique (GI) par CGH-array dans différents types de sarcomes comme les GIST<sup>3,5</sup>, les synoviosarcomes <sup>4</sup> et les tumeurs musculaires lisses de l'utérus <sup>6</sup>. Cette « signature génomique » ou « genomic index » est le reflet direct du degré de complexité moléculaire et d'instabilité génomique de la tumeur et s'avère être un puissant prédicteur de l'agressivité tumorale et de la rechute métastatique des tumeurs.</p> <p>Ces études ont été réalisées avec les microarrays 8x60 K whole genome d'Agilent, à partir de matériel fixé en formol et inclus en paraffine ce qui rend pertinent et accessible leur utilisation en clinique.</p> <p><b>Dans le but d'étendre l'utilisation de l'évaluation de l'index génomique (GI) par CGH, nous souhaiterions transposer l'approche validée précédemment au laboratoire sur puces AGILENT/SurePrint G3 8x60 K à la technologie Affymetrix/Oncoscan plus récente, plus résolutive et demandant moins de matériel moléculaire, également déjà utilisée au laboratoire. Les 2 technologies n'ayant pas du tout la même couverture du génome, il est</b></p>

	<p>nécessaire de les comparer sur une série de tumeurs parmi les cas précédemment publiés et pour lesquels nous disposons de toutes les données cliniques et biologiques.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>1) RELEVANCE DIAGNOSTIQUE :</b> D'une part, nous proposons de nous intéresser au diagnostic des lésions du muscle lisse utérin sur la base de travaux publiés en 2017<sup>6,7</sup>. En effet, il existe morphologiquement un groupe à potentiel incertain (stromal tumor of uncertain malignant potential: STUMP) pour lequel, les critères morphologiques classiques ne permettent pas de différencier avec certitude une tumeur bénigne d'une tumeur maligne. Ainsi nous avons démontré que le degré de complexité du réarrangement génomique tumoral permettait de classer ces tumeurs en 2 groupes évolutifs distincts : un groupe bénin, avec un taux d'altération faible à modéré sans risque de récurrence (GI&lt;10) et un groupe malin avec un degré de complexité génomique important similaire à une tumeur de type léiomyosarcome utérin (GI≥10). Ceci a un fort impact sur la prise en charge des patientes du 2<sup>ème</sup> groupe qui pourront bénéficier d'une surveillance clinique active.</li> <li>• <b>2) RELEVANCE PRONOSTIQUE ET THERAPEUTIQUE :</b> D'autre part, sur la base des travaux précédemment publiés, nous souhaiterions valider l'index génomique défini par la technique Oncoscan, dans un 1<sup>er</sup> temps dans les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). En effet, notre laboratoire est impliqué dans un protocole de recherche clinique ayant pour objectif l'évaluation de l'efficacité d'un traitement adjuvant par Imatinib pour les tumeurs GIST de risque intermédiaire présentant un GI de mauvais pronostic<sup>3</sup>. Pour ces tumeurs et sur la base du calcul de l'index génomique, les patients présentant un GI≥10 peuvent bénéficier d'un traitement adjuvant. Un protocole de surveillance est mis en place pour les patients avec un GI&lt;10. L'originalité de cette étude réside dans le fait qu'elle inclue des données moléculaires dans la décision thérapeutique. Elle illustre le concept de traitement individualisé et pourrait orienter la révision des recommandations actuelles de traitement des GIST en fonction du GI. Ces analyses pourraient ensuite être étendues à d'autres tumeurs.</li> </ul> <p><b>L'objectif de notre projet est d'établir la correspondance du calcul de l'index génomique et la détermination du seuil de classification des tumeurs de la technologie Agilent à la technologie Affymetrix pour pouvoir en faire bénéficier les patients analysés au sein du laboratoire dans le cadre diagnostic ou thérapeutique.</b></p> <p>1. Simpson P.T. et al. 2017. <i>Methods</i>. 131 ; 135-146  2. Chibon F. et al. 2010. <i>Nat Med</i>. 7 ; 781-787  3. Lagarde P. et al. 2012. <i>Clin Cancer Res</i>. 18(3) ; 826-838  4. Lartigue L. et al. 2015. <i>Eur J Cancer</i>. 51 ;75-83  5. Lagarde P. et al. 2013. <i>J. Clin. Oncol</i>. 31 ; 608-615  6. Croce S. et al. 2015. <i>Modern Pathology</i> 28 ; 1001-1010  7. Croce S. et al. 2018. <i>Modern Pathology</i> 31 ; 818-828</p>
<b>OBJECTIFS</b>	L'objectif de cette étude est de transposer le calcul de l'index génomique et la détermination du seuil de classification des tumeurs de la technologie Agilent/SurePrint G3 à la technologie Affymetrix/Oncoscan CNV
<b>SCHEMA DU PROJET</b>	<p>Ce projet est une recherche non interventionnelle rétrospective</p> <p>Nous nous appuyons sur les cohortes de tumeurs analysés antérieurement sur Agilent<sup>5,7</sup>.</p>

CRITERES D'INCLUSION DES ECHANTILLONS	<p>Dans cette étude, nous analyserons le profil génomique par CGH dans le cadre de :</p> <p><b>1) Etude diagnostique</b> 45 lésions musculaires lisses utérines : &gt; 10 léiomyomes &gt; 20 STUMP &gt; 15 léiomyosarcomes,</p> <p><b>2) Etude Thérapeutique</b> 20 GIST de risque intermédiaire &gt; 5 avec un index génomique élevé &gt; 5 avec un index génomique bas &gt; 10 avec un index génomique proche du seuil de 10</p> <p>(GI ayant été défini antérieurement par la technologie Agilent)</p>															
TRAITEMENTS/STRATEGIES/ PROCEDURES DE LA RECHERCHE	<p><u>PROCEDURE</u> : En parallèle de l'étude menée en 2018: L'ADN extrait à partir des blocs FFPE d'un total de 65 échantillons sera analysé par la technique Oncoscan CNV (Affymetrix) selon les recommandations du fabricant et le protocole établi au laboratoire. Le logiciel d'analyse utilisé sera le logiciel ChAS « Chromosome Analysis Suite v4 ».</p> <p><u>STRATEGIE</u>: L'avantage de la technologie Oncoscan est une résolution et une couverture du génome plus important que la technologie Agilent (tableau ci-dessous). Ainsi le calcul de l'index génomique devrait nous permettre d'être plus résolutif et classer plus précisément les lésions tumorales.</p> <table><tr><td>Fournisseur</td><td>AGILENT</td><td>AFFYMETRIX</td></tr><tr><td>Intitulé</td><td>SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8x60K</td><td>Affymetrix Kit, OncoScan CNV FFPE Assay Bundle</td></tr><tr><td>Référence</td><td>REF: G4450A</td><td>REF: 902695</td></tr><tr><td>Spécificité</td><td><b>Hybridation génomique comparative entre l'échantillon patient et 1 ADN de référence</b><ul style="list-style-type: none"><li>coupure enzymatique 50 à 400 pb</li><li>60 000 sondes</li><li>Sondes de 60 pb</li><li>8 échantillons / lames</li><li>Hybridation d'une sondes tous les 33-41 kb</li></ul></td><td><b>Hybridation de 2 puces (AT et GC) par ADN tumoral et Comparaison à une librairie de référence</b><ul style="list-style-type: none"><li>217 454 sondes</li><li>Sondes de 25pb</li><li>Résolution de 50kb à 125 kb sur 900 gènes</li><li>Résolution des LOH à travers le génome ≤10MB</li><li>Définition des CN</li></ul></td></tr><tr><td>Analyse</td><td>Cytogenomics Software</td><td>ChAs software</td></tr></table>	Fournisseur	AGILENT	AFFYMETRIX	Intitulé	SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8x60K	Affymetrix Kit, OncoScan CNV FFPE Assay Bundle	Référence	REF: G4450A	REF: 902695	Spécificité	<b>Hybridation génomique comparative entre l'échantillon patient et 1 ADN de référence</b> <ul style="list-style-type: none"><li>coupure enzymatique 50 à 400 pb</li><li>60 000 sondes</li><li>Sondes de 60 pb</li><li>8 échantillons / lames</li><li>Hybridation d'une sondes tous les 33-41 kb</li></ul>	<b>Hybridation de 2 puces (AT et GC) par ADN tumoral et Comparaison à une librairie de référence</b> <ul style="list-style-type: none"><li>217 454 sondes</li><li>Sondes de 25pb</li><li>Résolution de 50kb à 125 kb sur 900 gènes</li><li>Résolution des LOH à travers le génome ≤10MB</li><li>Définition des CN</li></ul>	Analyse	Cytogenomics Software	ChAs software
Fournisseur	AGILENT	AFFYMETRIX														
Intitulé	SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8x60K	Affymetrix Kit, OncoScan CNV FFPE Assay Bundle														
Référence	REF: G4450A	REF: 902695														
Spécificité	<b>Hybridation génomique comparative entre l'échantillon patient et 1 ADN de référence</b> <ul style="list-style-type: none"><li>coupure enzymatique 50 à 400 pb</li><li>60 000 sondes</li><li>Sondes de 60 pb</li><li>8 échantillons / lames</li><li>Hybridation d'une sondes tous les 33-41 kb</li></ul>	<b>Hybridation de 2 puces (AT et GC) par ADN tumoral et Comparaison à une librairie de référence</b> <ul style="list-style-type: none"><li>217 454 sondes</li><li>Sondes de 25pb</li><li>Résolution de 50kb à 125 kb sur 900 gènes</li><li>Résolution des LOH à travers le génome ≤10MB</li><li>Définition des CN</li></ul>														
Analyse	Cytogenomics Software	ChAs software														
CRITERES DE JUGEMENT /D'EVALUATION	<p>&gt; Transposition du modèle : de l'index génomique défini sur la technologie Agilent sur la technologie Affymetrix/oncoscan.</p> <p>&gt; Application aux lésions des muscles lisses utérins et aux GIST</p>															
BUDGET	<p>Pour les deux parties de ce projet, un total de 65 échantillons devra être analysé avec les contrôles négatifs et positifs propres à chaque expérience.</p>															

<b>DUREE DU PROJET</b>	<p>- Durée totale de la recherche : 6 mois</p> <p><b>Mois 1:</b> Extraction ADN des Cas</p> <p><b>Mois 2:</b> Réalisation de la méthode CGH Oncoscan</p> <p><b>Mois 3 :</b> Analyse et valorisation des résultats sous forme possible de publication</p>
<b>RETOMBÉES ATTENDUES</b>	<p><i>Classification is "an attempt to make the chaotic diversity of our sense experience correspond to a logically uniform system of thought" A. Einstein</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Redéfinir l'index génomique sur la technologie de choix au laboratoire nous permettra non seulement d'orienter la classification des lésions du muscle lisse utérin mais pourra être appliqué ultérieurement à d'autres types de lésions cancéreuses.</li> <li>&gt; L'utilisation de la technologie Affymetrix nous permettra d'obtenir une meilleure résolution pour l'évaluation de l'index génomique, car cette technologie semble plus performante et plus résolutive que la technologie Agilent.</li> <li>&gt; Dans la cadre de la médecine personnalisée, à l'exemple des GIST, l'évaluation de GI dans le cadre de protocole de recherche clinique pourrait également être applicable à d'autres types tumoraux et traitement.</li> </ul> <p><b>La définition de l'index génomique constitue un outil critique pour la classification des tumeurs, préciser un diagnostic et assigner un traitement pertinent. Utilisé couramment au laboratoire sur la technologie Oncoscan, il permettra de communiquer des données moléculaires complexes, en termes quantitatifs et soutiendra l'application réussie de la génomique dans les soins aux patients.</b></p>