
**Détection du marqueur HER2 dans le
cadre du traitement du cancer
gastrique et de la jonction gastro-
œsophagienne**

Comité consultatif en anatomopathologie

Novembre 2011

Ce guide constitue un outil fondé sur les données probantes. Il a été élaboré par le Comité consultatif en anatomopathologie. Son contenu n'engage que ses auteurs.

Ce document est disponible en version électronique à l'adresse www.msss.gouv.qc.ca/cancer.

Le genre masculin utilisé dans ce document désigne aussi bien les femmes que les hommes.

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2011

Bibliothèque et Archives Canada, 2011

ISBN : 978-2-550-63420-1 (version PDF)

Tous droits réservés pour tous pays. La reproduction, par quelque procédé que ce soit, la traduction ou la diffusion du présent document, même partielles, sont interdites sans l'autorisation préalable des Publications du Québec. Cependant, la reproduction partielle ou complète du document à des fins personnelles et non commerciales est permise, uniquement sur le territoire du Québec et à condition d'en mentionner la source.

© Gouvernement du Québec, 2011

Le document *Détection du marqueur HER2 dans le cadre du traitement du cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne* a été préparé par le Comité consultatif en anatomopathologie. La production de ce document a été rendue possible grâce au soutien financier de la Direction québécoise du cancer du ministère de la Santé et des Services sociaux.

Rédaction

M. Jim Boulanger, Ph.D., Direction québécoise du cancer, MSSS
 D^r Bernard Têtu, anatomopathologiste, Hôpital du Saint-Sacrement (CHAUQ)

Révision externe

D^{re} Geneviève Soucy, anatomopathologiste, Hôpital Saint-Luc (CHUM)

Le Comité de l'évolution des pratiques en oncologie (CEPO), notamment sollicité pour compléter la section 4.1 (Qui et quand tester?)

L'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ) émet un avis favorable quant au contenu de ce document. Les membres du sous-comité en anatomopathologie de l'Ordre ont participé à sa révision :

- > M. Denis Bouchard, T.M.
- > M^{me} Martine Chalifoux, T.M.
- > D^r Louis Gaboury, anatomopathologiste, président de l'Association des pathologistes du Québec (APQ)
- > M. Bruno Houde, T.M., vice-président de l'OPTMQ
- > M^{me} Cindy Laliberté, T.M.
- > M^{me} Anne-Marie Martel, T.M., chargée de dossiers scientifiques de l'OPTMQ
- > M^{me} Josée Senécal, T.M.
- > M^{me} Chantale Tremblay, T.M.

L'APQ a approuvé le contenu de ce document lors d'une rencontre de son conseil d'administration.

Révision interne et adoption

Comité consultatif en anatomopathologie

Exécutif :	Bernard TÊTU, président, anatomopathologiste à l'Hôpital du Saint-Sacrement (CHAUQ) Louis R. BÉGIN, anatomopathologiste à l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal, représentant du RUIS de l'Université de Montréal Pierre-Paul TURGEON, anatomopathologiste au Centre de santé et de services sociaux (CSSS) du Haut-Richelieu-Rouville, représentant de l'APQ Mélanie KAVANAGH, coordonnatrice, Ph.D., Direction québécoise du cancer, MSSS
Membres :	Chantal BERNARD, anatomopathologiste à l'Hôpital pour Enfants de Montréal (CUSM), représentante du RUIS de l'Université McGill Jim BOULANGER, Ph.D., Direction québécoise du cancer, MSSS Chantal CARON, anatomopathologiste à l'Hôpital du Saint-Sacrement (CHAUQ), représentante du RUIS de l'Université Laval (membre jusqu'en août 2011) Christian COUTURE, anatomopathologiste à l'Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec, représentant du RUIS de l'Université Laval (membre depuis novembre 2011) Micheline FAUVEL, représentante du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) Normand GERVAIS, chirurgien au CSSS de Rivière-du-Loup, représentant du CEPO Bruno HOUDE, technologiste médical à l'Hôpital Fleurimont (CHUS), représentant de l'OPTMQ Sylvain MAILHOT, anatomopathologiste au CSSS de Rimouski-Neigette, président du Comité d'assurance qualité en pathologie du LSPQ Edmond RIZCALLAH, anatomopathologiste à l'Hôpital Fleurimont (CHUS), représentant du RUIS de l'Université de Sherbrooke

RÉSUMÉ

La Société canadienne du cancer et l'Institut national du cancer du Canada estiment que 770 nouveaux cas de cancer gastrique seront diagnostiqués au Québec en 2011 et que 530 décès seront enregistrés. La plupart des diagnostics de cancer gastrique surviennent à un stade avancé de la maladie. L'utilisation d'une chimiothérapie néo-adjuvante ou d'une chimioradiothérapie adjuvante a un impact limité sur la survie globale et la survie sans maladie de ces patients.

Une surexpression protéique ou génique du marqueur HER2 a été détectée chez 4 à 28 % des patients atteints de cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne. Plusieurs études ont montré que les tumeurs gastriques surexprimant le marqueur HER2 étaient de plus mauvais pronostic. Le trastuzumab (Herceptin^{MC}), un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre le marqueur HER2, a été montré efficace chez des patients atteints d'un carcinome gastrique et surexprimant le marqueur HER2 (étude ToGA). La détermination de l'expression du marqueur HER2 devient donc un prérequis indispensable dès qu'un traitement à base de trastuzumab est envisagé.

La détection du marqueur HER2 dans le cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne diffère de celle utilisée dans le cancer du sein en raison notamment des différences majeures dans la biologie tumorale. En effet, le marquage membranaire incomplet obtenu par immunohistochimie est beaucoup plus fréquent, ce qui démontre l'hétérogénéité intratumorale des cancers gastriques et de la jonction gastro-œsophagienne, et confirme ainsi que l'analyse et l'interprétation du marqueur HER2 en cancer gastrique doivent être traitées différemment que dans le contexte du cancer du sein.

Dans le but d'établir des normes de bonnes pratiques en laboratoire pour la détection et l'interprétation du marqueur HER2 dans le cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne, une revue de la documentation scientifique a été effectuée en utilisant l'outil de recherche *PubMed*. La période couverte s'est étendue jusqu'au mois d'octobre 2011 inclusivement. Les études cliniques, les revues systématiques ainsi que les recommandations pour la pratique clinique et les consensus d'experts émis par certains organismes internationaux et agences de cancer ont été répertoriés.

L'identification de l'expression du marqueur HER2 est recommandée chez les patients atteints d'un cancer gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne localement avancé inopérable et/ou métastatique histologiquement confirmé chez qui on considère une thérapie à base de trastuzumab. Le marqueur HER2 est habituellement déterminé par immunohistochimie (IHC) ou, selon le résultat obtenu, par hybridation *in situ* (HIS). Des troussees validées disponibles commercialement sont recommandées pour l'IHC et pour l'HIS. Une grille d'interprétation des résultats obtenus par IHC spécifiquement pour le cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne a été développée et est couramment utilisée pour quantifier l'expression du marqueur HER2 puis évaluer la pertinence d'effectuer un test additionnel par HIS (en présence d'un résultat 2+ par IHC).

SUMMARY

The Canadian Cancer Society and the Canadian Cancer Society Research Institute estimate that 770 new cases of gastric cancer will be diagnosed in Québec in 2011 and 530 deaths will be recorded. In most cases, gastric cancer is diagnosed at an advanced stage of the disease. Neoadjuvant chemotherapy or chemoradiotherapy has a limited impact on overall and disease-free survival rates.

HER2-protein or gene overexpression or amplification has been detected in 4% to 28% of patients with gastric and gastro-oesophageal junction cancers. A number of studies have shown that HER2 overexpressing gastric tumors have the worst prognosis. Trastuzumab (Herceptin^{MC}), a humanized monoclonal antibody directed against HER2, has proven to be effective in patients with gastric carcinoma overexpressing HER2 (ToGA study). Therefore, determining the status of HER2 expression is a necessary precondition when trastuzumab-based treatment is being considered.

Criteria used to detect HER2 in gastric and gastro-oesophageal junction cancers differ from those used for breast cancer, notably because of major differences in tumor biology. Indeed, incomplete immunohistochemical membrane staining is much more common reflecting the intratumoral heterogeneity of gastric and gastro-oesophageal junction cancers. Thus, HER2 analysis and interpretation in gastric cancer must be handled differently from that in breast cancer.

To establish standards for good laboratory practices in the detection and interpretation of HER2 in gastric and gastro-oesophageal junction cancers, a review of the scientific literature was conducted using the *PubMed* search tool. The search period extended through October 2011, inclusively. Clinical studies, systematic reviews, clinical practice recommendations, and expert consensus issued by international organizations and cancer agencies were consulted.

Identification of HER2 expression is recommended in patients with histologically confirmed inoperable locally advanced or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction cancers and for whom trastuzumab-based therapy is being considered. HER2 is usually detected by immunohistochemistry (IHC) or, depending on the results, by *in situ* hybridization (ISH). Commercially available approved kits are recommended for IHC and for ISH. An interpretation grid for IHC results specific to gastric and gastro-oesophageal junction cancers was created and is now used to quantify HER2 expression and evaluate the appropriateness of performing an additional ISH test (when the IHC score is 2+).

1. OBJECTIF

Établir des normes de bonnes pratiques de travail en laboratoire en matière de détection du marqueur HER2 dans le cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne afin que les professionnels concernés puissent bénéficier de protocoles qui simplifieront la validation de la méthode et l'interprétation des résultats.

2. MISE EN CONTEXTE

La Société canadienne du cancer et l'Institut national du cancer du Canada estiment que 770 nouveaux cas de cancer gastrique seront diagnostiqués au Québec en 2011 (2 900 cas au Canada) et que 530 décès seront enregistrés (1 800 décès au Canada) [1]. Le pronostic pour les patients atteints d'un cancer gastrique, en terme de survie à 10 ans, se situe entre 15 et 20 % [2-5].

La plupart des diagnostics de cancer gastrique surviennent à un stade avancé de la maladie. Moins de la moitié des patients atteints de ce cancer pourront bénéficier d'une chirurgie à visée curative et les récurrences sont fréquentes à la suite de la résection. Les patients se présenteront majoritairement avec un cancer avancé, métastatique ou inopérable. L'utilisation d'une chimiothérapie néo-adjuvante ou d'une radiochimiothérapie adjuvante a un impact limité sur la survie globale et la survie sans maladie de ces patients [6]. Les régimes combinés de chimiothérapie sont plus actifs que les agents seuls, mais le bénéfice en terme de survie demeure faible [7]. Une méta-analyse, publiée par le groupe Cochrane en 2010, a confirmé qu'une survie médiane à un an n'a encore jamais été atteinte dans les essais cliniques randomisés de phase III évaluant diverses combinaisons de chimiothérapie [7]. Les résultats décevants obtenus avec les chimiothérapies conventionnelles ont réorienté les recherches vers des biothérapies ciblées visant, par exemple, le *human epithelial growth factor 2* (HER2), facteur de croissance impliqué dans la prolifération cellulaire initiée par l'activation des récepteurs tyrosine kinases.

L'amplification du marqueur HER2 dans les adénocarcinomes gastriques a été identifiée peu après la découverte de cette amplification dans le cancer du sein [8-12]. Une surexpression du marqueur HER2 par immunohistochimie (IHC) a été rapportée en 1991 chez 11,9 % des patients d'une cohorte de 260 patients atteints de cancers gastriques, puis considérée comme ayant un impact pronostique défavorable sur la survie globale [13]. Par la suite, de nombreuses publications ont fait état de la surexpression protéique ou de l'amplification génique du marqueur HER2 dans 4 à 28 % des cancers gastriques [13-29]. Comme c'est le cas dans le cancer du sein, de nombreuses études ont montré que les cancers gastriques surexprimant le marqueur HER2 étaient de plus mauvais pronostic [13-15, 17, 20, 21, 23-25, 27-30]. Cet impact négatif de la surexpression du marqueur HER2 n'a cependant pas toujours été retrouvé dans les essais cliniques publiés [16, 18, 22, 26].

Le trastuzumab (Herceptin^{MC}) est un anticorps monoclonal humanisé recombinant dirigé contre le marqueur HER2 [31]. Le trastuzumab bloque la prolifération *in vitro* de lignées cellulaires de cancers gastriques surexprimant le marqueur HER2 et augmente, après injection sous-cutanée, la survie de souris ayant une carcinomatose péritonéale avec surexpression du marqueur HER2 [25, 32]. Récemment, l'étude multicentrique randomisée de phase III ToGA (*Trastuzumab for Gastric Cancer*) a démontré l'efficacité du trastuzumab en première ligne en terme de survie globale, dans le contexte du traitement du carcinome gastrique métastatique [33]. Dans cette étude, le trastuzumab a été combiné à un traitement de chimiothérapie standard (5-FU ou capécitabine et cisplatine) chez des patients atteints d'adénocarcinome gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne HER2 positifs de stade avancé. Cette étude a rapporté un bénéfice clinique et statistiquement significatif de l'ajout de trastuzumab en terme de survie globale, de survie sans progression et de taux de réponse. Lors d'une analyse planifiée

réalisée a posteriori, il a été montré que les effets positifs du trastuzumab étaient limités au sous-groupe de patients IHC 2+ / *fluorescence in situ hybridisation* (FISH) + et IHC3+ qui représentent 16 % de la population couverte par cette étude. Dans cette population, l'amélioration de la survie globale était plus importante avec des médianes de survie globale respectives de 11,8 mois et 16 mois dans les bras chimiothérapie standard et chimiothérapie standard plus trastuzumab.

Il existe plusieurs différences biologiques importantes entre le cancer gastrique et le cancer du sein, lesquelles ont un impact significatif sur la détection et l'interprétation des résultats lors d'une analyse de l'expression du marqueur HER2 [34]. Dans le contexte du cancer gastrique, l'expression du marqueur HER2 dans le tissu tumoral est beaucoup plus hétérogène et les critères de positivité sont différents. Ainsi, un marquage par IHC baso-latéral ou latéral seulement est suffisant en cancer gastrique pour être considéré positif, alors qu'un marquage membranaire complet est requis dans le cas du cancer du sein.

Ce document fait état de la documentation scientifique pertinente concernant la détection du marqueur HER2 dans le cas du cancer gastrique et de la jonction œsophagienne et permet d'établir des normes de bonnes pratiques de travail en laboratoire en matière de détection du marqueur HER2 et d'interprétation des résultats.

3. MÉTHODE

Une revue de la documentation scientifique a été effectuée en utilisant les mots clés *HER2* (MeSH), *gastric cancer* (MeSH), *immunochemistry* et *in situ hybridization*, dans l'outil de recherche Pubmed. La période couverte s'est étendue jusqu'au mois d'octobre 2011 inclusivement. Les abrégés de communication présentés lors des congrès de l'*American Society of Clinical Oncology* (ASCO) et de l'*European Society for Medical Oncology* (ESMO) en 2009 et 2010 ont été consultés.

Les revues systématiques ainsi que les recommandations pour la pratique clinique et les consensus d'experts émis par certains organismes internationaux et agences de cancer ont également été répertoriés. Notamment, les sites Internet des organismes suivants ont été consultés : l'*ASCO*, le *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN), l'*European Society for Medical Oncology* (ESMO), le *National Institute for Health and Clinical Excellence* (NICE), la *Cochrane Library of Systematic Reviews*, le *Cancer Care Ontario* (CCO) et le *National Guideline Clearinghouse*. La bibliographie des articles sélectionnés a permis de compléter la revue de la documentation scientifique. Seules les publications en anglais et en français ont été consultées.

Un sous-comité du Comité consultatif en anatomopathologie a rédigé le présent guide et un groupe d'experts indépendants a par la suite effectué la révision externe. Le Comité consultatif en anatomopathologie a finalement adopté la version finale du présent document. Le Comité de l'évolution des pratiques en oncologie (CEPO), un comité de la Direction québécoise du cancer du MSSS composé d'hématologues et oncologues médicaux, de chirurgiens oncologues, de radio-oncologues et de pharmaciens experts en oncologie ont évalué l'indication de la détection du marqueur HER2.

4. DISCUSSION ET RECOMMANDATIONS

4.1. Qui et quand tester?

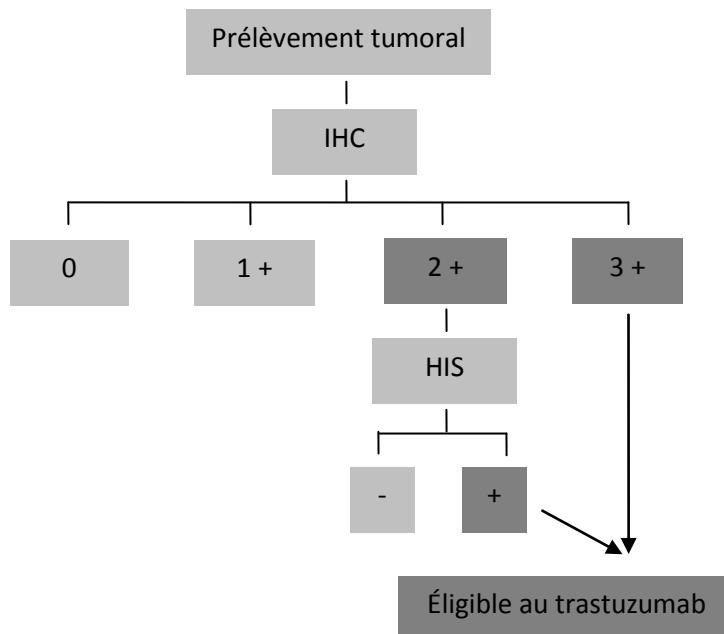
L'identification de l'expression du marqueur HER2 est recommandée chez les patients atteints d'un cancer gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne localement avancé inopérable et/ou métastatique histologiquement confirmé chez qui on considère une thérapie à base d'Herceptin^{MC} [33].

4.2. Normalisation de la détection du marqueur HER2

4.2.1. Quelle technique pour évaluer l'expression du marqueur HER2?

L'éligibilité des patients au trastuzumab dépend de la démonstration de la surexpression protéique ou de l'amplification du gène du marqueur HER2. Les deux méthodes actuellement recommandées sont l'IHC et l'hybridation *in situ* (HIS) réalisées sur des coupes de tissus fixés et inclus en paraffine. Tel que recommandé en cancer du sein, le statut du marqueur HER2 en cancer gastrique doit d'abord être évalué par IHC, pour ensuite être confirmé par HIS pour les cas équivoques (2+ obtenus en IHC; voir la Figure 1) [35].

Figure 1. Algorithme des tests pour la détection du marqueur HER2 dans le cancer gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne métastatique [36].



La détection de l'expression du marqueur HER2 peut être faite en utilisant des trousse commerciales. Deux trousse commerciales approuvées par Santé Canada et la *Food and Drugs Administration* (FDA) américaine sont présentement disponibles pour la détection de l'expression du marqueur HER2 dans le cas d'un cancer gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne par IHC (voir le Tableau 1). L'étude ToGA a été réalisée avec le HerceptestTM [33]. Une étude franco-allemande a montré une variabilité des

résultats selon la trousse utilisée [37]. La trousse Ventana™ était au moins aussi sensible que la trousse Herceptest™ avec, en plus, une meilleure concordance inter-observateurs. La détection peut aussi être faite avec toute autre trousse approuvée par Santé Canada ou des trousse dont l'efficacité est appuyée par des données scientifiques probantes.

Tableau 1. Trousses commerciales disponibles pour la détection du marqueur HER2 par IHC.

Détection par IHC		
Trouse	Compagnie	Anticorps
Ventana™ PATHWAY HER-2/neu	Roche Tissue Diagnostics	4B5
Herceptest™	Dako	A0485

Il existe plusieurs anticorps spécifiques dirigés contre le marqueur HER2 également disponibles en dehors des trousse standardisées. Les plus utilisés sont l'anticorps monoclonal NCL-CB11 de Novocastra, l'anticorps monoclonal SP3 de Microm, l'anticorps monoclonal 4B5 de Ventana-Roche et l'anticorps polyclonal A4B5 de Dako. Tous ces anticorps sont dirigés contre la partie intracytoplasmique du marqueur HER2 [38]. L'anticorps Tab250 de Invitrogen reconnaît quant à lui le domaine extracellulaire du marqueur HER2 [38]. Par contre, l'utilisation des trousse commerciales approuvées et validées est préconisée.

Pour l'HIS, trois trousse approuvées par l'European Medicines Agency (EMA) et la FDA sont disponibles selon l'utilisation de la fluorescence (FISH) ou non (*bright field in situ hybridization*, BrISH) (voir le Tableau 2) [39]. La technique FISH a été utilisée dans l'étude ToGA [33]. Un bon niveau de concordance entre les techniques FISH et BrISH a été précédemment observé dans le cas de cancers gastriques [40]. Une technique de BrISH est recommandée et est préférable car elle permet l'évaluation en parallèle de l'histologie et de la morphologie de la tumeur, permettant ainsi de repérer plus facilement les foyers amplifiés en cas de tumeurs hétérogènes [41, 42]. De plus, les résultats obtenus par BrISH peuvent être conservés, contrairement au FISH, ce qui représente une meilleure assurance qualité et permet la possibilité de réviser des résultats obtenus antérieurement.

Tableau 2. Trousses commerciales disponibles pour la détection du marqueur HER2 par HIS.

Détection par HIS		
Trouse	Compagnie	Sonde
HER2 FISH pharmDx™	Dako	HER2 : texas red
		CEP17 : fluorescein isothiocyanate (FITC)
Ventana HER2 DNA probe	Roche Tissue Diagnostics	Sonde ADN HER2
		CEP17 : alkaline-phosphatase rouge
Ventana HER2 INFORM Dual ISH DNA probe cocktail	Roche Tissue Diagnostics	Sonde ADN HER2
		CEP17 : alkaline-phosphatase rouge

4.2.2. Préparation du tissu et étapes pré-analytiques

La détection du marqueur HER2 est acceptable sur des spécimens chirurgicaux et biopsiques [34, 36]. Une coupe représentative du cancer doit être utilisée dans le cas de spécimens chirurgicaux. Dans le cas de biopsies, cinq à huit biopsies sont recommandées de manière à garantir la représentativité de la tumeur [43]. L'utilisation de micropuces de tissus (*Tissus microarray*, TMA) n'est pas recommandée pour le diagnostic dû à l'hétérogénéité de l'expression du marqueur HER2 et de son amplification dans ce type de tumeur [41].

L'analyse du statut du marqueur HER2 doit être effectuée sur du tissu fixé au formol 10% tampon phosphate pH neutre conservé en paraffine. Afin d'assurer une pénétration optimale du fixateur, il est nécessaire de fixer le plus rapidement possible les échantillons, soit moins d'une heure après le prélèvement dans le cas de pièces chirurgicales [44]. Les recommandations internationales préconisent une fixation au formol 10 % tampon phosphate pH neutre durant 24 à 48 heures pour les pièces chirurgicales et durant 6 à 8 heures pour les biopsies [45]. Une période de fixation trop courte peut entraîner la présence de faux positifs au cours de l'IHC [44]. Le liquide de Bouin ne doit pas être utilisé puisque son utilisation interdit tout recours ultérieur à une technique d'HIS [41]. Plusieurs publications ont rapporté que l'utilisation de fixateurs à base d'alcool était potentiellement génératrice de faux positifs avec l'IHC et de problèmes de surdigestion des noyaux avec les techniques d'HIS, conduisant ainsi à des échecs techniques [46, 47].

Dans le cas de l'inclusion en paraffine, la température doit être maintenue à 2°C au dessus du point de fusion de la paraffine utilisée, sans dépasser 60°C. La grosseur minimale des blocs de paraffine pour les spécimens chirurgicaux devrait être de 1 cm³. Une fois fixés et inclus dans la paraffine, les échantillons sont stables pour plusieurs dizaines d'années [48, 49]. Une détérioration dans le temps est néanmoins possible, ce qui pourrait affecter la sensibilité de l'IHC [48, 49]. De préférence, les blocs doivent être conservés dans une pièce adéquatement ventilée dont la température n'excède pas 27°C.

Les coupes doivent être faites dans une région représentative de la tumeur en s'appuyant sur la coloration à l'hématoxyline / éosine (H&E) ou à l'hémalum / phloxine / safran (HPS). L'épaisseur standard de la coupe devrait être entre 3 et 4 µm selon le tissu. Les sections devraient être montées sur une lame ayant de bonnes propriétés d'adhésion, telles les lames Superfrost™ ou celles recouvertes de poly-L-lysine, et séchées adéquatement (12 à 24 heures à température ambiante ou 1 à 2 heures à 56°C) [50]. Un séchage excessif pendant plus d'une heure à 60 °C ou plus peut entraîner une perte ou une diminution marquée de l'immunoréactivité spécifique de la protéine HER2 associée à la membrane [51]. Suivant l'étalement, il peut y avoir une chute de la sensibilité de l'IHC avec le temps [52]. Il est donc recommandé de préparer les lames extemporanément pour la technique d'IHC ou au maximum deux semaines à l'avance en conservant ces coupes tissulaires à l'abri de la lumière et de la poussière à 4°C [38].

Le démasquage des antigènes est recommandé lorsque l'une ou l'autre des deux trousse commerciales est utilisée pour l'IHC. Un mauvais démasquage peut être la cause de variation dans la détection de l'expression du marqueur HER2 (p. ex. : source de bruit de fond, marquage non spécifique). Un démasquage excessif peut être détecté en évaluant le marquage du tissu normal adjacent au tissu tumoral. Selon la trousse commerciale utilisée, l'essai doit être rejeté et repris si le tissu normal possède un marquage positif. Il est recommandé de suivre les directives, les délais et les températures recommandés par le fabricant selon le réactif utilisé.

Un prétraitement à la chaleur et l'utilisation d'une protéase (pepsine) sont nécessaires pour les techniques d'HIS. Il s'agit de l'étape la plus critique de la technique. Le temps de traitement est important pour éviter une sous-digestion (niveau d'auto-fluorescence élevé) ou une surdigestion

(apparence de cellules absentes). Il est recommandé de suivre les délais et températures recommandés par le fabricant selon les réactifs utilisés.

4.2.3. Interprétation des résultats

Les carcinomes mammaires ou gastriques étant biologiquement, morphologiquement et cliniquement différents, l'utilisation des guides de pratique clinique pour l'interprétation des résultats validés pour le cancer du sein ne peuvent être utilisés pour le cancer gastrique. L'utilisation de la grille d'interprétation du marqueur HER2 pour les carcinomes mammaires peut entraîner un taux de faux négatifs de plus de 50 % [36].

L'interprétation des résultats d'IHC du marqueur HER2 dans les cancers gastriques et gastro-œsophagiens, telle que validée par Hoffmann *et al.*, est basée sur l'intensité du marquage, le marquage membranaire complet ou incomplet et le pourcentage de cellules marquées (voir le Tableau 3 et l'Annexe 1) [53]. Pour évaluer de façon reproductible l'intensité du marquage membranaire par IHC, le degré de grossissement microscopique auquel le marquage membranaire est clairement visible doit être pris en compte [37, 53].

Le résultat d'ISH est considéré positif si le rapport entre le nombre de copies du gène HER2 par cellule tumorale et le nombre de copies du chromosome 17 est supérieur ou égal à deux [19, 53-55].

Tableau 3. Résultats d'IHC pour la classification de l'expression du marqueur HER2 dans le cas de cancer gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne.

Caractéristiques du marquage	Résultats / Classification
Absence de marquage ou marquage membranaire dans moins de 10 % des cellules tumorales	0 / négatif
Visible à fort grossissement (40X)	
Marquage membranaire faible, à peine perceptible dans plus de 10 % des cellules tumorales; les cellules ne sont marquées que sur une petite partie de leur membrane	1+ / négatif
Visible au grossissement intermédiaire (10 – 20X)	
Marquage membranaire complet, basolatéral ou latéral faible à modéré dans plus de 10 %* des cellules tumorales	2+ / équivoque
❖ Vérification des témoins de la réaction	
❖ Technique d'hybridation <i>in situ</i> (ISH)	
Visible au grossissement faible (2,5 – 5X)	
Marquage membranaire complet, basolatéral ou latéral modéré à intense dans plus de 10 %* des cellules tumorales	3+ / positif

* le seuil de 10 % n'est pas valable dans le cas de biopsies endoscopiques. Un marquage d'au moins cinq cellules adjacentes cohésives est considéré positif dans le cas de biopsies [36].

4.3. Assurance qualité

Les laboratoires impliqués dans la validation, la détection et l'interprétation du marqueur HER2 dans le cancer gastrique devront se conformer au Plan québécois d'assurance qualité en anatomopathologie

[56]. Ainsi, afin de s'assurer de la validation des techniques et de l'obtention de résultats précis, reproductibles et de qualité, la détermination du statut du marqueur HER2 doit être réalisée par une équipe multidisciplinaire expérimentée. Cette équipe devra disposer d'un pathologiste possédant l'expérience pour l'interprétation des analyses provenant d'échantillons de cancer gastrique. Le personnel de laboratoire devra posséder une formation spécifique acquise dans un laboratoire ayant l'expérience pour effectuer les tests relatifs au marqueur HER2 dans le cancer gastrique et la jonction gastro-œsophagienne (IHC et HIS).

Concernant les manipulations, il est recommandé de suivre les procédés de détection du marqueur HER2 spécifiés par le fabricant de la trousse utilisée pour la détection. Dans le but d'avoir des manipulations reproductibles, il est recommandé d'adopter des protocoles standards d'analyses de laboratoire comme le stipule les lignes directrices pour la pratique clinique du *College of American Pathologist* (CAP) [57]. Afin d'assurer la validation des méthodes de tests dans le but d'obtenir de résultats fiables, les techniques de détection du marqueur HER2 doivent être testées sur une centaine de cas de carcinome invasif au diagnostic [37]. Il est important de confronter les données obtenues par IHC à celles d'une technique d'HIS, éventuellement avec l'aide d'un centre expert afin de calibrer la technique d'IHC [37]. Le type d'anticorps utilisé pour la détection du marqueur HER2 doit être indiqué par le laboratoire de pathologie.

Toutes les manipulations devront démontrer un processus de validation du contrôle de la qualité comprenant l'utilisation de témoins positifs et négatifs provenant, de préférence, d'échantillons de biopsies plutôt que de lignées cellulaires. Les laboratoires effectuant la détection du marqueur HER2 devront aussi souscrire à un programme externe d'assurance de la qualité tel que stipulé dans le Plan global d'assurance qualité en anatomopathologie [56].

Le Comité recommande que les résultats concernant la détection du marqueur HER2 soient transmis en l'espace de 10 jours ouvrables dans le cas d'une biopsie ou d'une pièce chirurgicale. Dans le cas où une HIS est requise, un rapport intérimaire annonçant le début de l'analyse doit être envoyé au médecin traitant.

5. CONCLUSION

L'intégration de nouveaux tests de pathologie en lien avec l'introduction de thérapies ciblées en oncologie dans la pratique clinique demande la mise en place de lignes directrices afin de faciliter la validation, l'interprétation des résultats et l'obtention de manipulations de qualité. Les thérapies ciblant le marqueur HER2 sont disponibles depuis un certain temps, notamment en cancer du sein. Plus récemment, la surexpression du marqueur HER2 a été observée dans les cancers gastriques et de la jonction gastro-œsophagienne. En effet, l'étude ToGA a démontré des bénéfices cliniques suivant l'utilisation du trastuzumab chez les patients atteints de carcinome gastrique ayant une surexpression du marqueur HER2.

L'identification de l'expression du marqueur HER2 est recommandée chez les patients atteints d'un cancer gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne localement avancé inopérable et/ou métastatique histologiquement confirmé chez qui on considère une thérapie à base d'Herceptin^{MC}. Il est habituellement déterminé par IHC ou, selon le résultat obtenu, par HIS. Des troussees validées disponibles commercialement sont recommandées pour l'IHC et pour l'HIS pour évaluer l'expression protéique ou l'amplification génique du marqueur HER2. Une grille d'interprétation des résultats d'IHC spécifique au cancer gastrique et à la jonction gastro-œsophagienne a été développée et est couramment utilisée pour quantifier l'expression du marqueur HER2 puis évaluer la pertinence d'effectuer un test additionnel par HIS (en présence d'un résultat 2+ par IHC).

L'adhésion aux normes de bonnes pratiques concernant la détermination du statut du marqueur HER2 dans les cancers gastrique et de la jonction gastro-œsophagienne permettra de mettre rapidement sur pied un outil diagnostique de qualité indispensable à l'administration d'un traitement oncologique. La standardisation des manipulations d'IHC et d'HIS facilitera le travail du personnel responsable d'effectuer les manipulations et d'interpréter les résultats en lien avec cette nouvelle analyse.

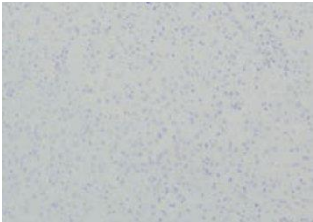
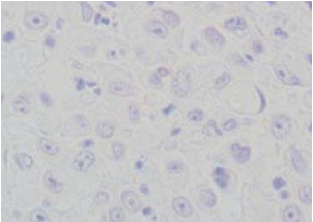
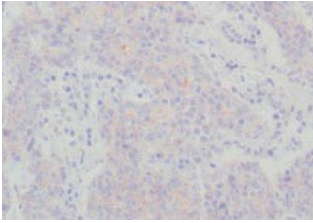
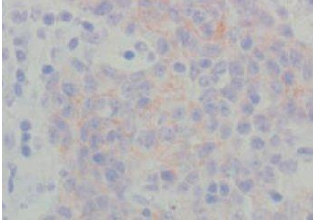
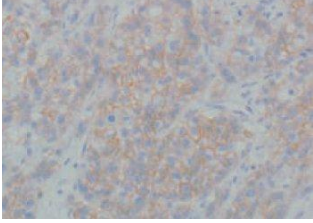
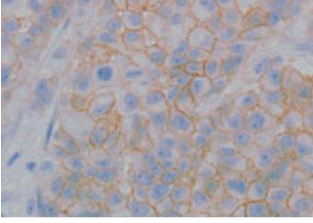
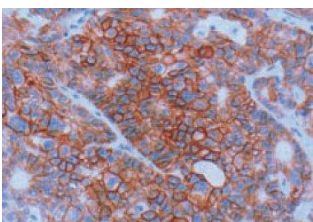
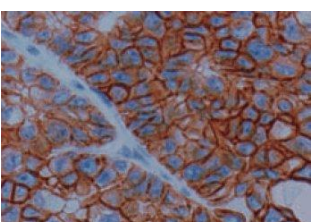
6. RÉFÉRENCES

1. Société canadienne du cancer et Institut national du cancer du Canada. Statistiques canadiennes sur le cancer 2011. 2011. Toronto, Canada. 132 p.
2. De Vita F, Giuliani F, Silvestris N, Catalano G, Ciardiello F, Orditura M. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in gastric cancer: a new therapeutic target. *Cancer Treat Rev* 2010; 36 Suppl 3:S11-15.
3. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12:354-362.
4. Faycal J, Bessagnet C, Noursbaum JB, Cauvin JM, Cholet F, Bideau K, Robaszekiewicz M, Gouerou H. Epidemiology and long term survival of gastric carcinoma in the French district of Finistere between 1984 and 1995. *Gastroenterol Clin Biol* 2005; 29:23-32.
5. Msika S, Benhamiche AM, Jouve JL, Rat P, Faivre J. Prognostic factors after curative resection for gastric cancer. A population-based study. *Eur J Cancer* 2000; 36:390-396.
6. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, de Braud F, Van Cutsem E. Gastric cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009; 71:127-164.
7. Wagner AD, Unverzagt S, Grothe W, Kleber G, Grothey A, Haerting J, Fleig WE. Chemotherapy for advanced gastric cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2010:CD004064.
8. Fukushige S, Matsubara K, Yoshida M, Sasaki M, Suzuki T, Semba K, Toyoshima K, Yamamoto T. Localization of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol* 1986; 6:955-958.
9. Sakai K, Mori S, Kawamoto T, Taniguchi S, Kobori O, Morioka Y, Kuroki T, Kano K. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1986; 77:1047-1052.
10. Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K. Similarity of protein encoded by the human c-erbB-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 1986; 319:230-234.
11. Yokota J, Yamamoto T, Toyoshima K, Terada M, Sugimura T, Battifora H, Cline MJ. Amplification of c-erbB-2 oncogene in human adenocarcinomas in vivo. *Lancet* 1986; 1:765-767.
12. King CR, Kraus MH, Aaronson SA. Amplification of a novel v-erbB-related gene in a human mammary carcinoma. *Science* 1985; 229:974-976.
13. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, Fushida S, Kimura H, Ohoyama S, Miyazaki I, Endou Y, Tanaka M, Sasaki T. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991; 51:1034-1038.
14. Allgayer H, Babic R, Gruetzner KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol* 2000; 18:2201-2209.
15. Garcia I, Vizoso F, Martin A, Sanz L, Abdel-Lah O, Raigoso P, Garcia-Muniz JL. Clinical significance of the epidermal growth factor receptor and HER2 receptor in resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2003; 10:234-241.
16. Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Muller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclusions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010; 32:57-65.
17. Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: a new prognostic factor and a novel therapeutic target. *Ann Oncol* 2008; 19:1523-1529.
18. Lee HR, Kim JH, Uhm HD, Ahn JB, Rha SY, Cho JY, Lee JI, Lee KH, Chung HC, Roh JK, Min JS, Lee KS, et al. Overexpression of c-ErbB-2 protein in gastric cancer by immunohistochemical stain. *Oncology* 1996; 53:192-197.
19. Marx AH, Tharun L, Muth J, Dancau AM, Simon R, Yekebas E, Kaifi JT, Mirlacher M, Brummendorf TH, Bokemeyer C, Izbicki JR, Sauter G. HER-2 amplification is highly homogenous in gastric cancer. *Hum Pathol* 2009; 40:769-777.
20. Mizutani T, Onda M, Tokunaga A, Yamanaka N, Sugisaki Y. Relationship of C-erbB-2 protein expression and gene amplification to invasion and metastasis in human gastric cancer. *Cancer* 1993; 72:2083-2088.

21. Motojima K, Furui J, Kohara N, Izawa K, Kanematsu T, Shiku H. erbB-2 expression in well-differentiated adenocarcinoma of the stomach predicts shorter survival after curative resection. *Surgery* 1994; 115:349-354.
22. Ohguri T, Sato Y, Koizumi W, Saigenji K, Kameya T. An immunohistochemical study of c-erbB-2 protein in gastric carcinomas and lymph-node metastases: is the c-erbB-2 protein really a prognostic indicator? *Int J Cancer* 1993; 53:75-79.
23. Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Yoo CH, Son BH, Cho EY, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51:1371-1379.
24. Pinto-de-Sousa J, David L, Almeida R, Leitao D, Preto JR, Seixas M, Pimenta A. c-erb B-2 expression is associated with tumor location and venous invasion and influences survival of patients with gastric carcinoma. *Int J Surg Pathol* 2002; 10:247-256.
25. Tanner M, Hollmen M, Junttila TT, Kapanen AI, Tommola S, Soini Y, Helin H, Salo J, Joensuu H, Sihvo E, Elenius K, Isola J. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16:273-278.
26. Tateishi M, Toda T, Minamisono Y, Nagasaki S. Clinicopathological significance of c-erbB-2 protein expression in human gastric carcinoma. *J Surg Oncol* 1992; 49:209-212.
27. Uchino S, Tsuda H, Maruyama K, Kinoshita T, Sasako M, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. Overexpression of c-erbB-2 protein in gastric cancer. Its correlation with long-term survival of patients. *Cancer* 1993; 72:3179-3184.
28. Yan B, Yau EX, Bte Omar SS, Ong CW, Pang B, Yeoh KG, Salto-Tellez M. A study of HER2 gene amplification and protein expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2010; 63:839-842.
29. Zhang XL, Yang YS, Xu DP, Qu JH, Guo MZ, Gong Y, Huang J. Comparative study on overexpression of HER2/neu and HER3 in gastric cancer. *World J Surg* 2009; 33:2112-2118.
30. Roche. HER2 testing best practice guide for gastric and gastro-oesophageal junction cancer. Février 2011.
31. Hudis CA. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med* 2007; 357:39-51.
32. Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraishi N, Kitano S. Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overexpression by an anti-HER2 antibody in a murine model. *Int J Oncol* 2005; 27:681-685.
33. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376:687-697.
34. Moelans et al. HER-2/ neutesting and therapy in gastroesophageal adenocarcinoma. *Path Res Int* vol 2011, 10 p.
35. European Medicines Agency. CHMP post-authorisation summary of positive opinion for Herceptin on 17 December 2009. <http://www.ema.europa.eu/>, consulté en ligne le 9 mai 2011. 2 p.
36. Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol* 2011; 18:53-59.
37. Ruschoff J, Dietel M, Baretton G, Arbogast S, Walch A, Monges G, Chenard MP, Penault-Llorca F, Nagelmeier I, Schlake W, Hofler H, Kreipe HH. HER2 diagnostics in gastric cancer-guideline validation and development of standardized immunohistochemical testing. *Virchows Arch* 2010; 457:299-307.
38. Penault-Llorca F, Chenard MP, Bouche O, Emile JF, Bibeau F, Metges JP, Andre T, Monges G. [HER2 and gastric cancer. Recommendations for clinical practice in 2011]. *Ann Pathol* 2011; 31:78-87.
39. Penault-Llorca F, Bilous M, Dowsett M, Hanna W, Osamura RY, Ruschoff J, van de Vijver M. Emerging technologies for assessing HER2 amplification. *Am J Clin Pathol* 2009; 132:539-548.
40. Powell, W.C. et al. Determining the HER2 status in gastric cancer: A method comparison study of two patient cohorts. Présenté en 2010 au Symposium de Cancers Gastrointestinaux de l'ASCO. http://www.asco.org/ascov2/Meetings/Abstracts?&vmview=abst_detail_view&confID=72&abstractID=1298, consulté en ligne le 5 mai 2011.
41. Bouche O, Penault-Llorca F. HER2 and gastric cancer: a novel therapeutic target for trastuzumab. *Bull Cancer* 2010; 97:1429-1440.
42. Garcia-Garcia E, Gomez-Martin C, Angulo B, Conde E, Suarez-Gauthier A, Adrados M, Perna C, Rodriguez-Peralto JL, Hidalgo M, Lopez-Rios F. Hybridization for human epidermal growth factor receptor 2 testing in

- gastric carcinoma: a comparison of fluorescence in-situ hybridization with a novel fully automated dual-colour silver in-situ hybridization method. *Histopathology* 2011; 59:8-17.
43. Thésaurus national de cancérologie digestive. <http://www.tncd.org/>, consulté en ligne le 5 mai 2011.
 44. Jouret-Mourin, A, Hoorens, A, Kockx, M, Demetter, P et Van Cutsem, E. Belgian guidelines for HER2 testing in gastric cancer. *Belg J Med Oncol* 2011; 5:14-22.
 45. Comité consultatif en anatomopathologie. Guide sur l'assurance de la qualité en anatomopathologie – Phases pré-analytique et analytique. Direction québécoise du cancer. Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec. 2011. 37 p.
 46. Jacobs TW, Gown AM, Yaziji H, Barnes MJ, Schnitt SJ. Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-approved scoring system. *J Clin Oncol* 1999; 17:1983-1987.
 47. Penault-Llorca F, Vincent-Salomon A, Bellocq JP, Matthieu MC, Grogan GM, Treilleux I, Ettore F, Laberge-Le Couteux S, Sigal B, Couturier J, Lacroix-Triki M, Antoine M, et al. [Update of the GEFPICS' recommendations for HER2 status determination in breast cancers in France]. *Ann Pathol* 2010; 30:357-373.
 48. DiVito KA, Charette LA, Rimm DL, Camp RL. Long-term preservation of antigenicity on tissue microarrays. *Lab Invest* 2004; 84:1071-1078.
 49. Risio M, De Rosa G, Sarotto I, Casorzo L, Capussotti L, Torchio B, Aglietta M, Chiecchio L. HER2 testing in gastric cancer: molecular morphology and storage time-related changes in archival samples. *Int J Oncol* 2003; 23:1381-1387.
 50. Fortier, J.C. et Hould, R. *Histotechnologie : théorie et procédés*. Centre collégial de développement de matériel didactique, 2003. 717 p.
 51. Lundgaard Hansen B, Winther H, Moller K. Excessive section drying of breast cancer tissue prior to deparaffinisation and antigen retrieval causes a loss in HER2 immunoreactivity, *Immunocytochemistry* 2008;6,119-22.
 52. Atkins D, Reiffen KA, Tegtmeier CL, Winther H, Bonato MS, Storkel S. Immunohistochemical detection of EGFR in paraffin-embedded tumor tissues: variation in staining intensity due to choice of fixative and storage time of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 2004; 52:893-901.
 53. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Buttner R, van de Vijver M, Kim W, Ochiai A, Ruschoff J, Henkel T. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52:797-805.
 54. Barros-Silva JD, Leitao D, Afonso L, Vieira J, Dinis-Ribeiro M, Fragoso M, Bento MJ, Santos L, Ferreira P, Rego S, Brandao C, Carneiro F, et al. Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *Br J Cancer* 2009; 100:487-493.
 55. Yano T, Doi T, Ohtsu A, Boku N, Hashizume K, Nakanishi M, Ochiai A. Comparison of HER2 gene amplification assessed by fluorescence in situ hybridization and HER2 protein expression assessed by immunohistochemistry in gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15:65-71.
 56. Comité consultatif en anatomopathologie. Plan global d'assurance qualité en anatomopathologie. Direction des communications. Ministère de la Santé et des Services sociaux du Québec. 2010, 47 p.
 57. College of American Pathologists. Anatomic Pathology Checklist. Commission on laboratory accreditation, Laboratory accreditation program, 2010.

ANNEXE I**Tableau 4. Résultats d'IHC pour la classification de l'expression du marqueur HER2 dans le cas de cancer gastrique ou de la jonction gastro-œsophagienne.**

Caractéristiques du marquage		Résultats /Classification
20 X	40 X	
		0 / négatif
		1+ / négatif
		2+ / équivoque
		3+ / positif

Source : http://www.dako.com/29018_05may10_herceptest_interpretation_manual_gastric_cancer.pdf

ANNEXE II

Conflits d'intérêts

D^{re} Geneviève Soucy a reçu une bourse de la compagnie Hoffman-Laroche pour effectuer un projet de recherche en cancer gastrique (étude de validation), ainsi qu'une formation par la compagnie allemande Targos sur le marqueur HER2 dans le cancer gastrique.