

HER2

*Un paradigma
en evolución*

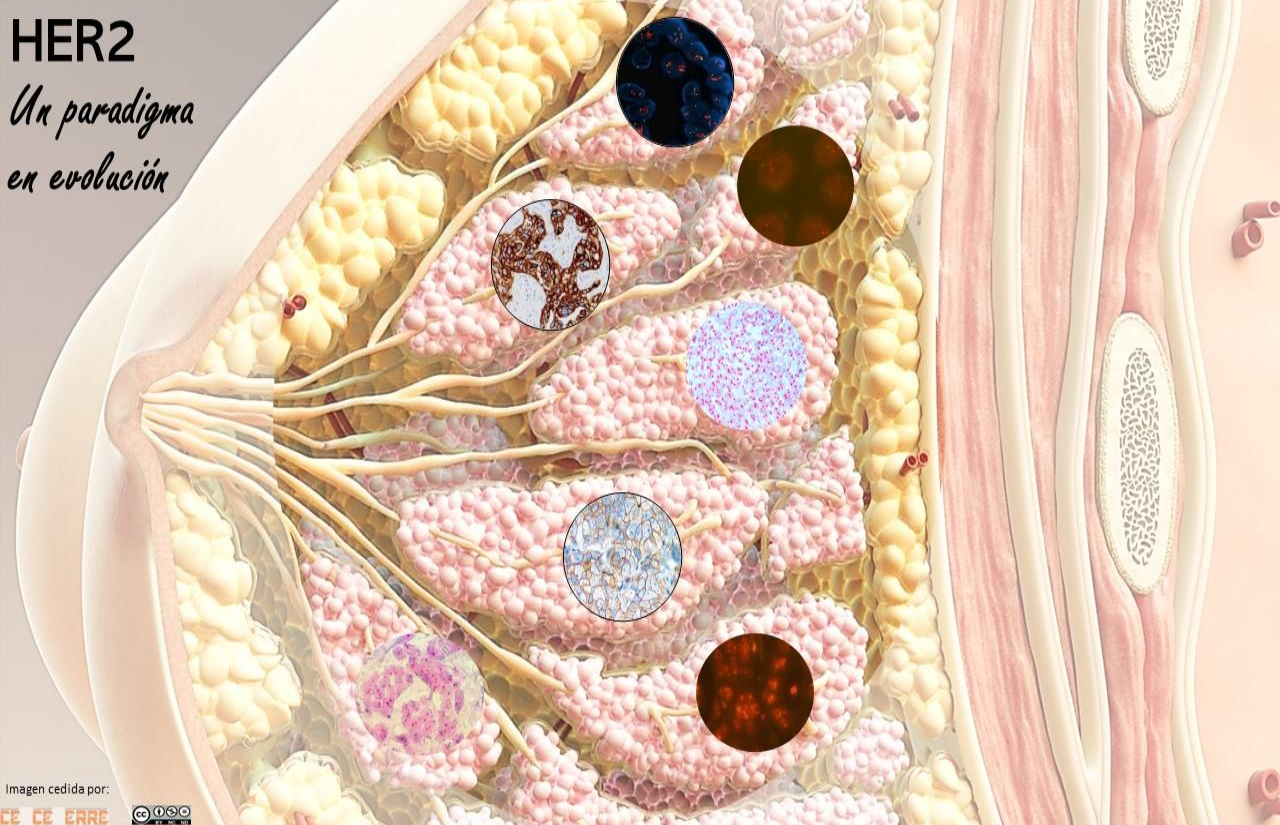


Imagen cedida por:

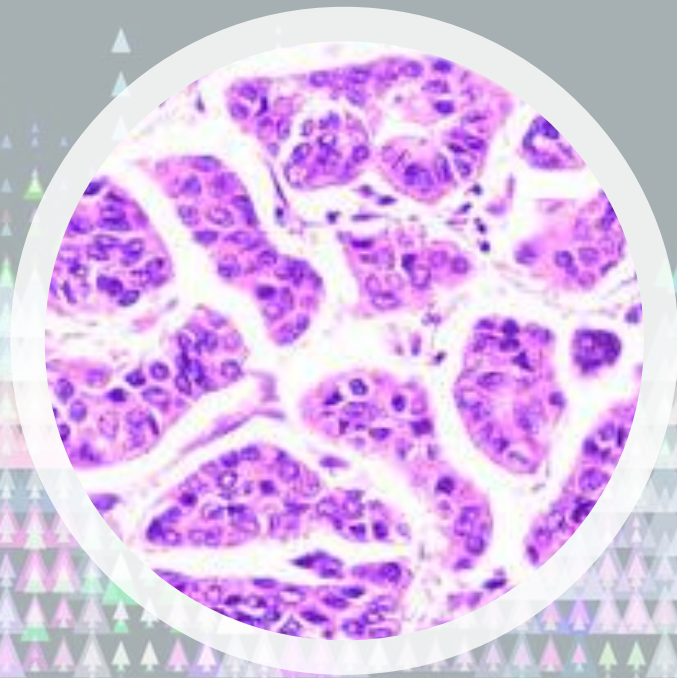
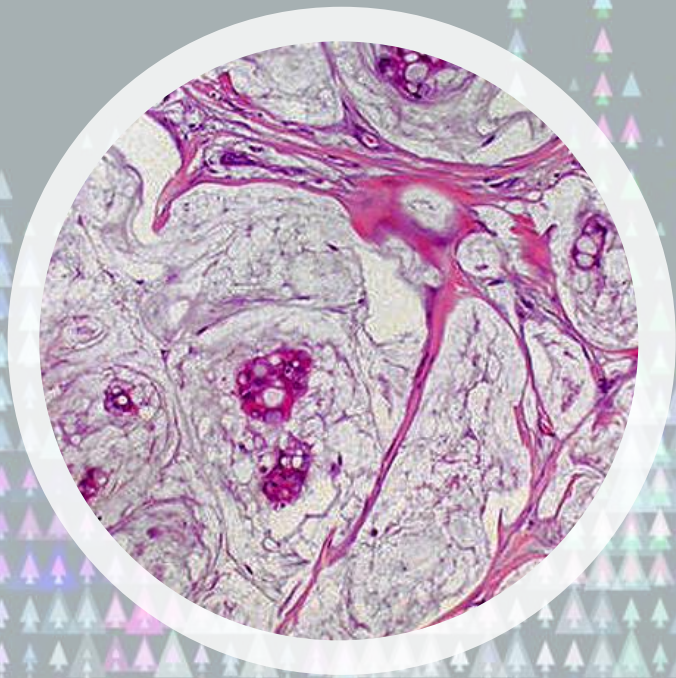
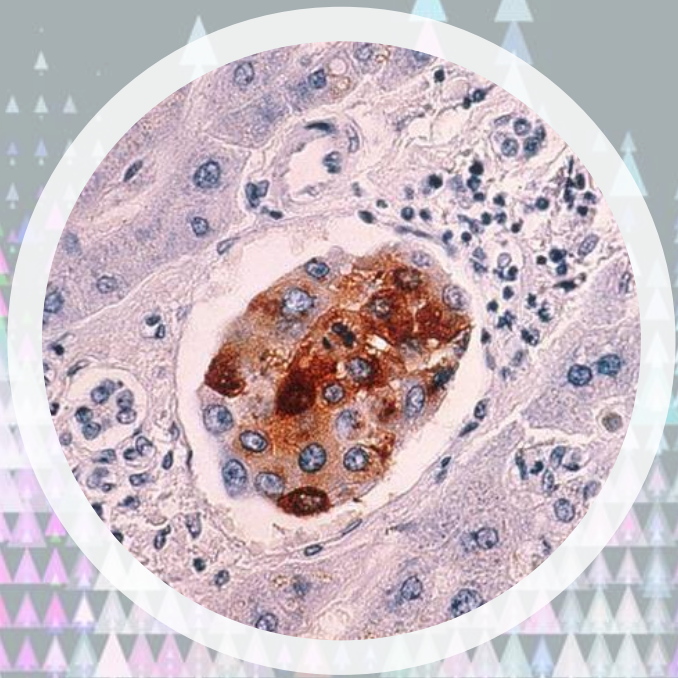
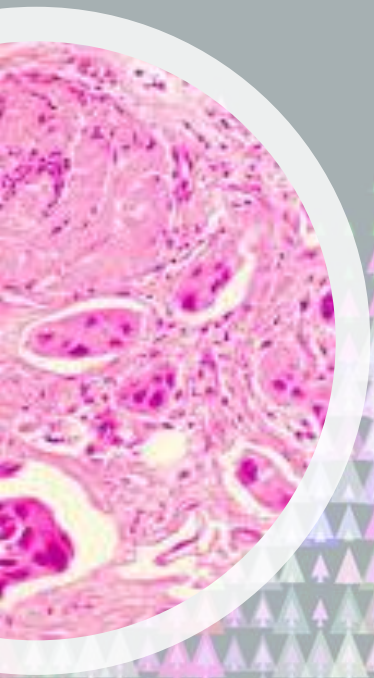
CE CE ERRE

Sociedad Española
de Senología y Patología Mamaria

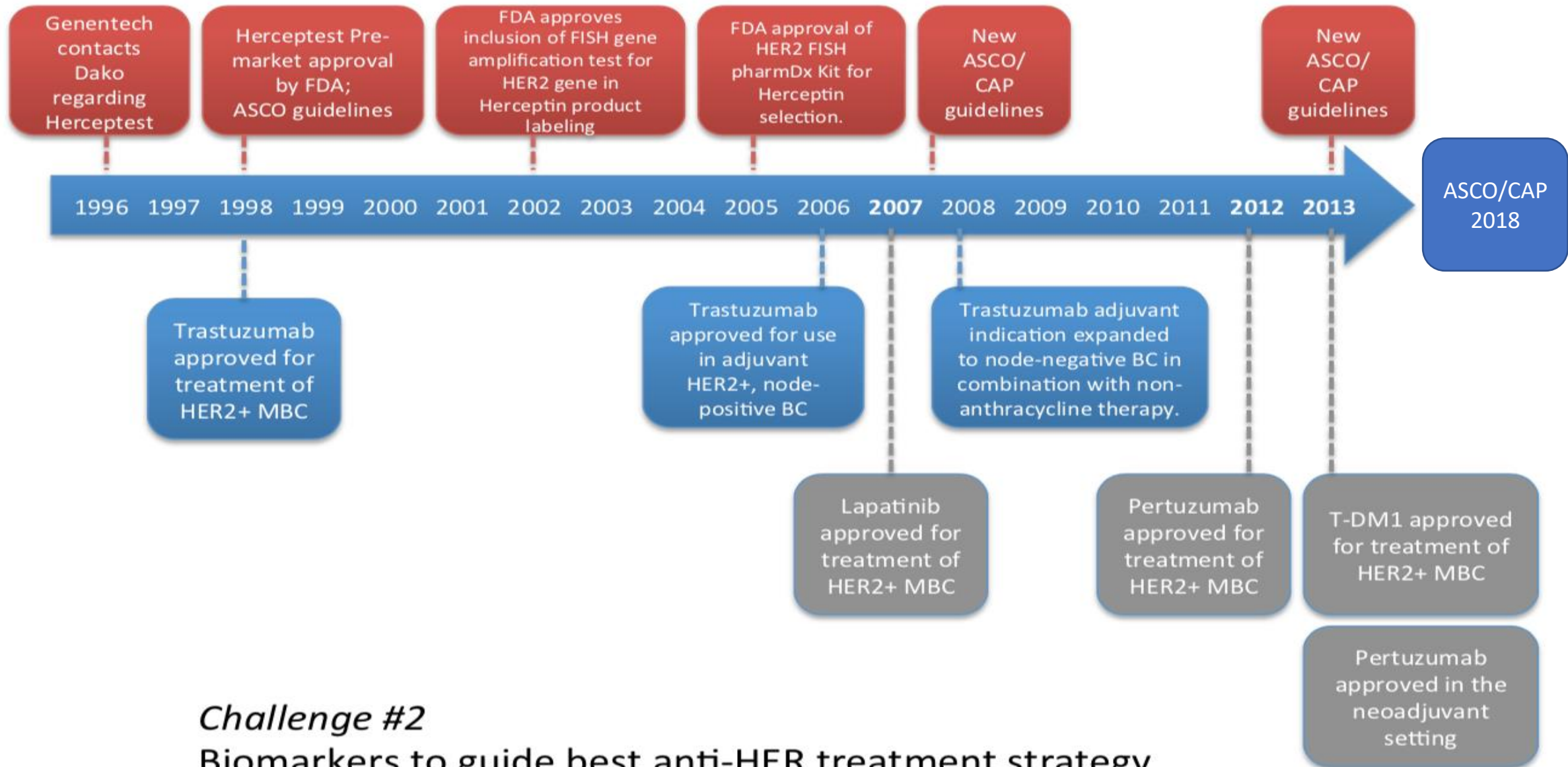
CÁNCER DE MAMA HER2-LOW ¿UNA NUEVA ENTIDAD?

Laia Bernet. Grupo Ribera Salud

mebernet@riberasalud.es



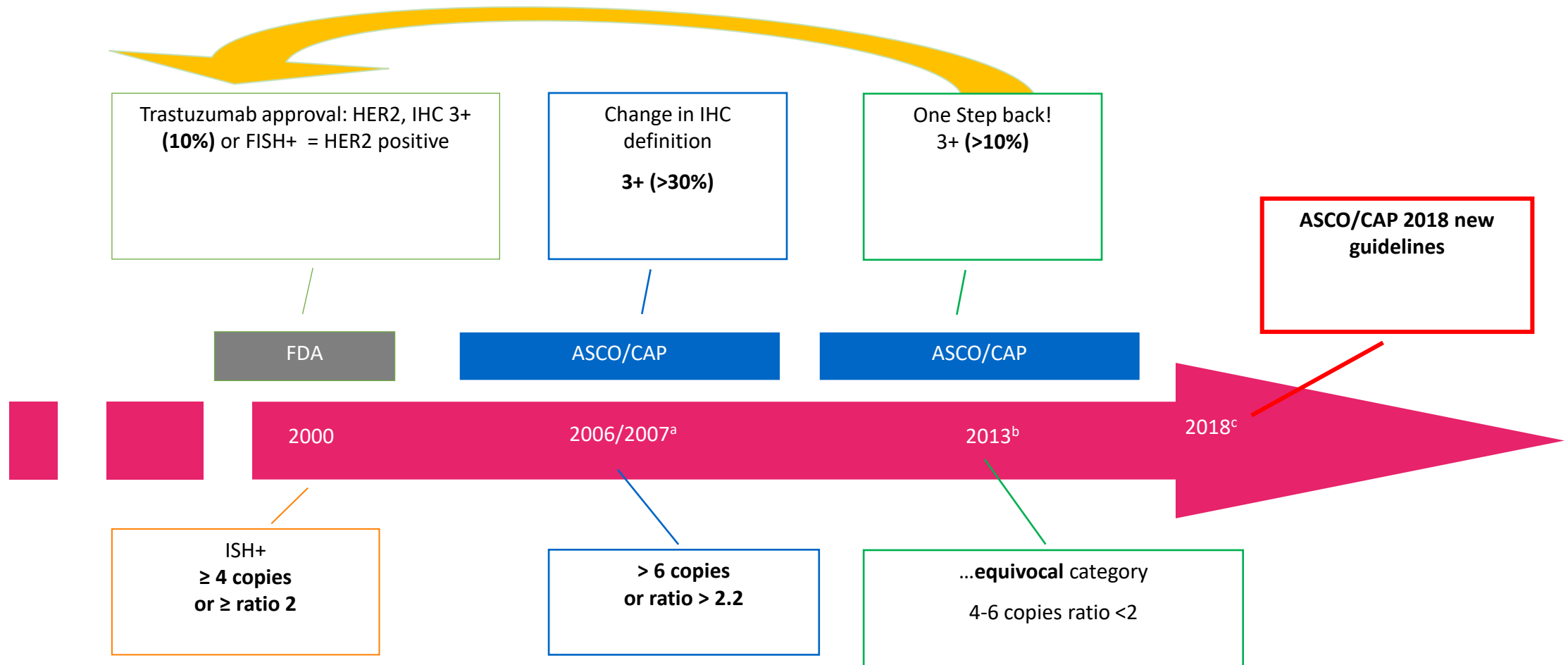
ENFERMEDAD HETEROGÉNEA



Challenge #2

Biomarkers to guide best anti-HER treatment strategy

THE CUT-OFF CONTROVERSY



ASCO, American Society of Clinical Oncology; CAP, College of American Pathologists; FISH, fluorescent *in situ* hybridization;
1. Wolff AC, et al. J Clin Oncol 2007;25:118-45; 2. Wolff AC, et al. J Clin Oncol 2013;31:3997-4013; 3. Wolff AC, et al. J Clin Oncol 2018;36:2105-22.



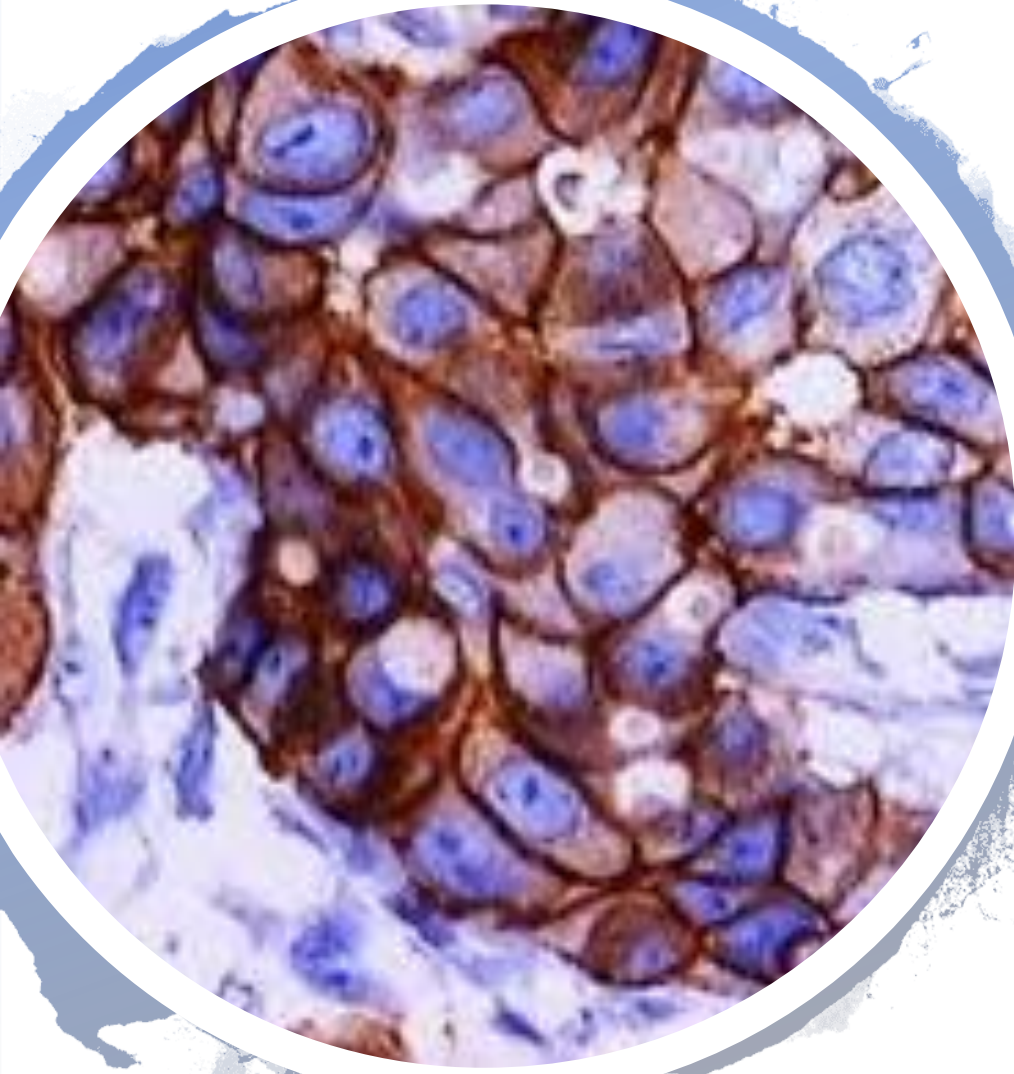
D (2018) ASCO/CAP GUIDELINE R2 TESTING IN BREAST CANC

DIAGNÓSTICO

- Si IHC 3+: POSITIVO (2018 guidelines).
- Si IHC 0/1+: NEGATIVO
- Si IHC 2+: ISH - contar mínimo de 20 células

➡ POSITIVO. (AMPLIFICADO)

➡ NEGATIVO (NO AMPLIFICADO)



HER2: INTERPRETACIÓN BINARIA

- Diagnóstico Her2: Dicotómico
- Decisiones del oncólogo son también dicotómicas
- Sólo tumores Her2-positivos se benefician de del doble bloqueo o de añadir TZ a QT

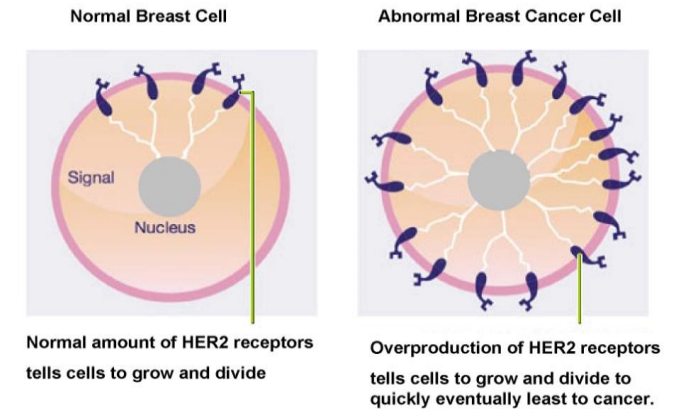
CUESTIONES

Nivel de amplificación (HIS) o sobre-expresión (IHQ) son **pobres predictores** de respuesta o resistencia a terapia anti-Her2

Reproducibilidad (especialmente IHQ)

No todos los casos IHQ (3+) muestran amplificación ni todos los tumores amplificados muestran sobre-expresión proteica

En IHQ (3+), no se tienen en cuenta niveles de la diana a efectos de tratamiento



Any membranous staining present?

Membranous staining present

No membranous staining (at 40x)

Negative (0)

Completeness:
Incomplete

Completeness:
Complete

Intensity:
Faint/barely perceptible in >10%
(40x power required to detect)

Intensity:
Weak/moderate in >10%
(visualized on 10–20x power)

Intensity:
Strong/"chicken-wire" in >10%
(visible at 2–5x power)

Negative (1+)

Equivocal (2+)

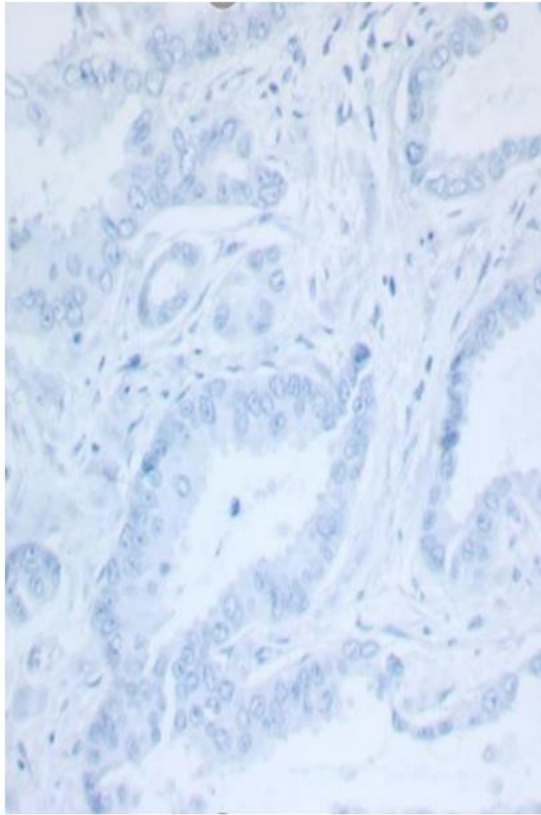
Positive (3+)

Reflex to ISH testing

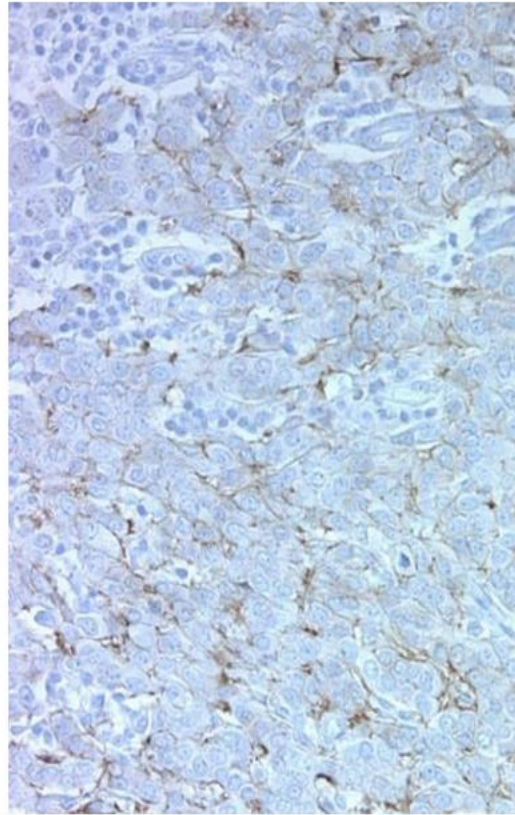
Strong in <10%

CONSTANT AND CONTINUOUS EXPRESSION OF HER2 IN BREAST CANCER

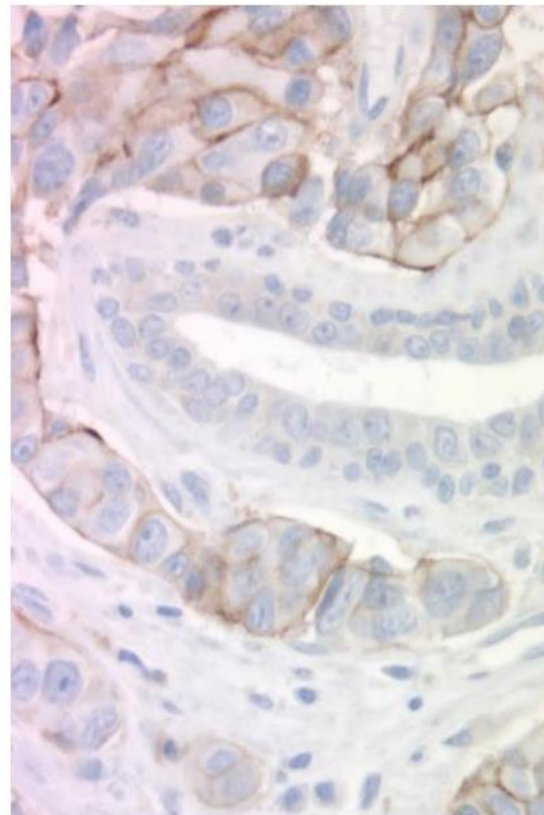
HER2 0



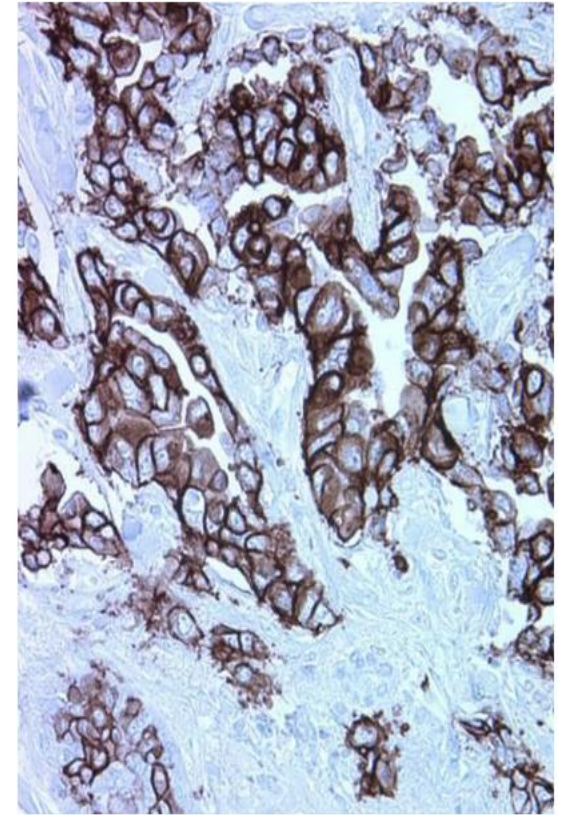
HER2 1+



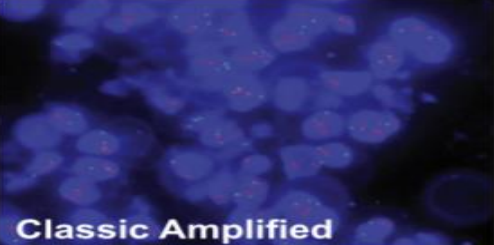

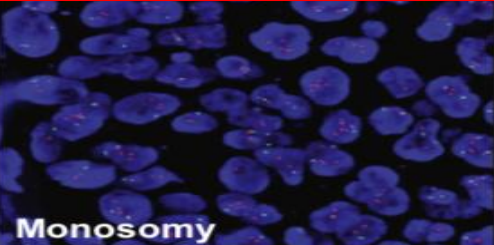

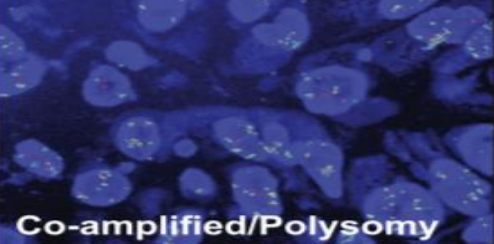

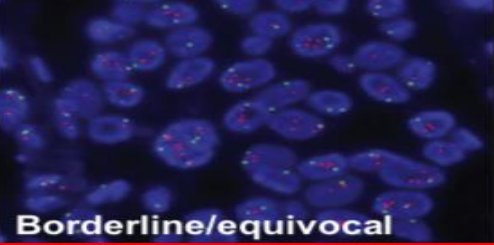

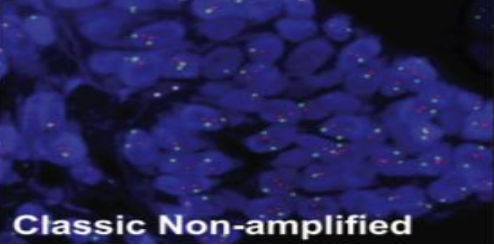
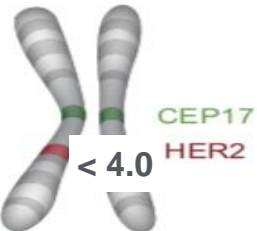
HER2 2+



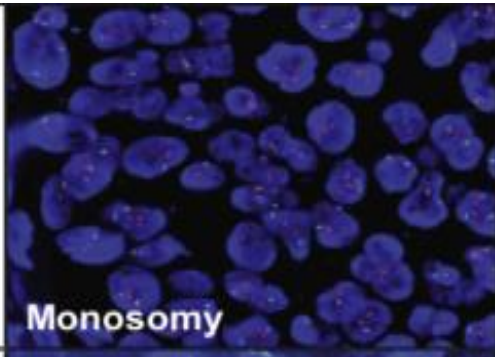
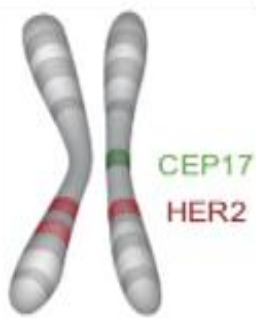
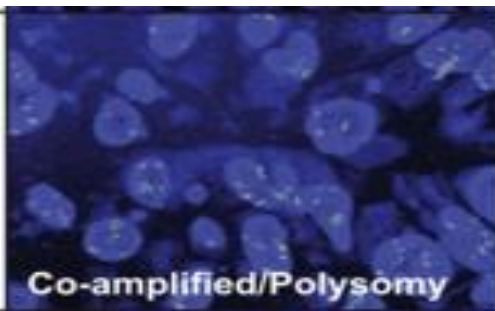
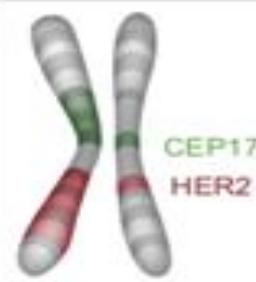
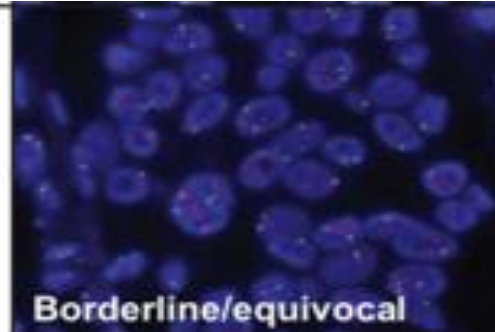

HER2 3+



HER2 protein
HER2 mRNA

Result Group	Category	Ratio	Mean HER2 signals/cell	Example	CAP/ASCO FISH Interpretation
Group 1	 Classic Amplified	≥ 2.0	≥ 6.0	 CEP17 HER2	2013: Positive 2017 proposal: Positive
Group 2	 Monosomy	≥ 2.0	< 4.0	 CEP17 HER2	2013: Positive 2017 proposal: Additional work-up required ^a → Negative unless concurrent IHC 3+
Group 3	 Co-amplified/Polysomy	< 2.0	≥ 6.0	 CEP17 HER2	2013: Positive 2017 proposal: Additional work-up required ^a Positive if concurrent IHC 2+ or 3+ (otherwise negative)
Group 4	 Borderline/equivocal	< 2.0	4.0 – 6.0	 CEP17 HER2	2013: Equivocal 2017 proposal: Additional work-up required ^a → Negative unless concurrent IHC 3+
Group 5	 Classic Non-amplified	< 2.0	≥ 6.0	 CEP17 HER2 < 4.0	2013: Negative 2017 proposal: Negative



Group 2	 Monosomy	≥ 2.0	< 4.0		2013: Positive 2017 proposal: Additional work-up required ^a → Negative unless concurrent IHC 3+	✳
Group 3	 Co-amplified/Polysomy	< 2.0	≥ 6.0		2013: Positive 2017 proposal: Additional work-up required ^a Positive if concurrent IHC 2+ or 3+ (otherwise negative)	✳
Group 4	 Borderline/equivocal	< 2.0	4.0 – 6.0		2013: Equivocal 2017 proposal: Additional work-up required ^a → Negative unless concurrent IHC 3+	✳

SITUACIONES CLÍNICAS AMBIGUAS

D (2018) ASCO/CAP GUIDELINE
R2 TESTING IN BREAST CANC

GRUPO 4:

- Estudios genéticos identifican subgrupo HER2-E dentro del grupo 4 pero no se ha demostrado beneficio a TZ
- ¿Cómo manejar a estos pacientes?

HER2 testing (invasive component) by validated IHC assay

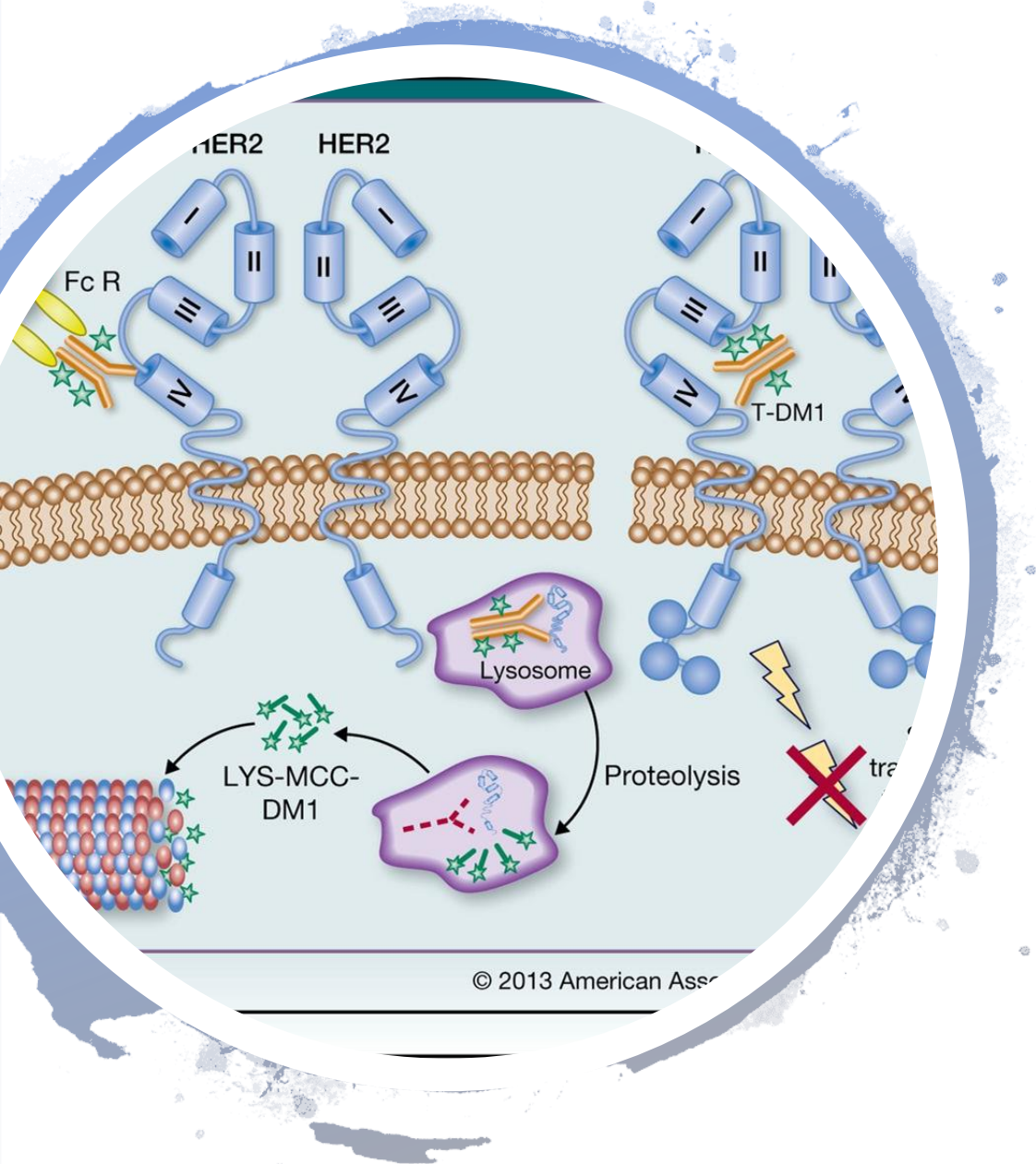
Batch controls and on-slide controls show appropriate hybridization (NOT AMPLIFIED)

Incomplete membrane staining
that is faint/barely perceptible
and in > 10% of tumor cells

IHC 1+

Weak to moderate complete
membrane staining observed
in > 10% of tumor cells

IHC 2+ Non amplified



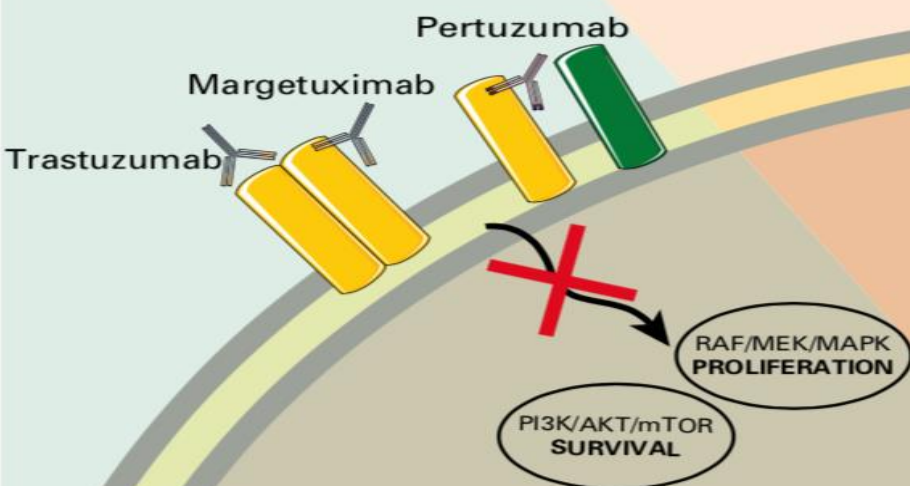
EXPANDIENDO ARMAMENTARIO DE AGENTES ANTI-HER2 EN TUMORES HER2-LOW

- Se ha sugerido que nuevos ADCs , pueden tener actividad ant-tumoral en modelos pre-clínicos
- Pertuzumab: Actividad limitada en pacientes metastásicos Her2-Low

A**B****ANTIBODY-DRUG CONJUGATES****MONOCLONAL ANTIBODIES**

Trastuzumab deruxtecan
 Trastuzumab duocarmazine
 PF-06804103
 A166
 RC48-ADC
 ARX788

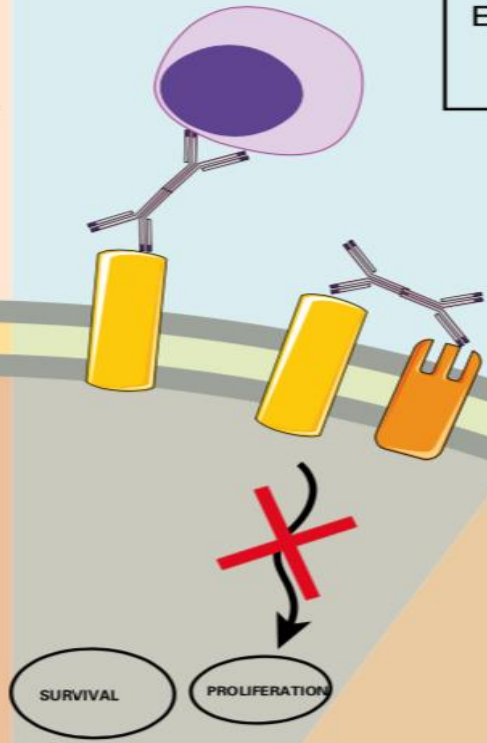
Antitumoral agent
 Linker
 Antibody



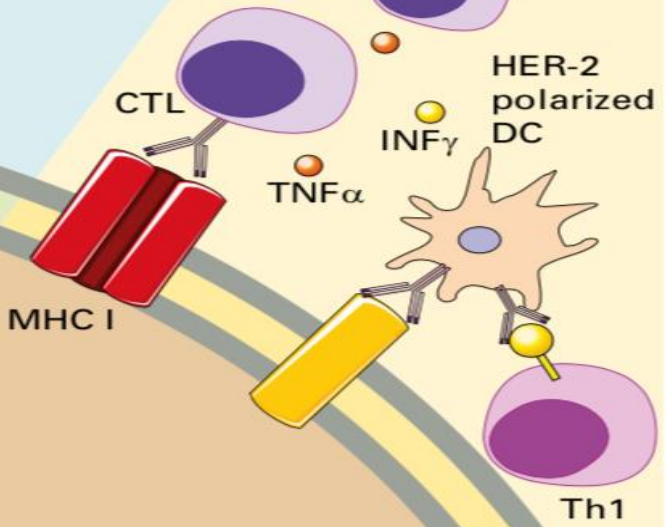
Trastuzumab
 Pertuzumab
 Margetuximab
 TrasGEX

C**BISPECIFIC ANTIBODIES**

MCLA-128
 ZW25
 Ertumaxomab
 MM-111
 GBR 1302

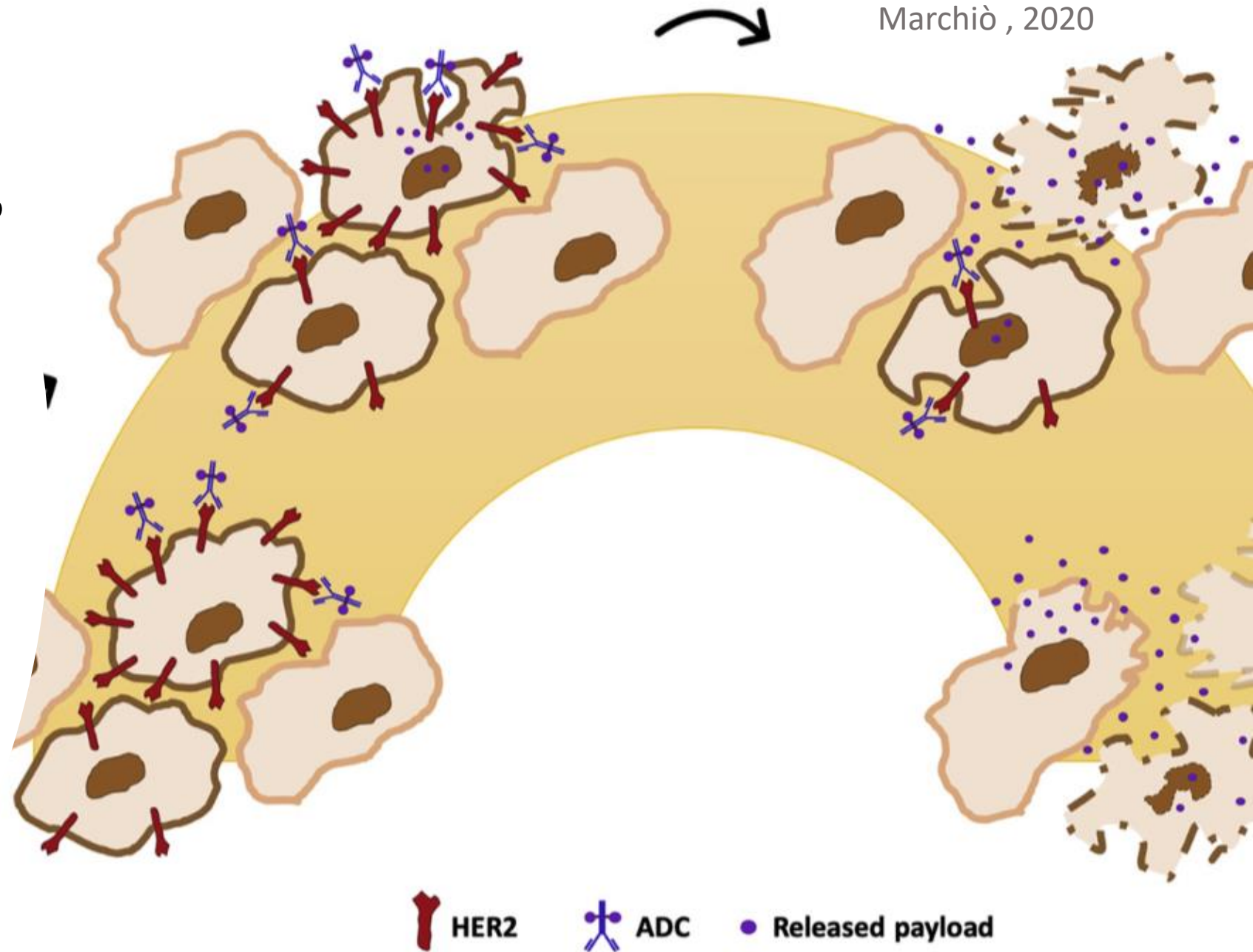


Nelipepimut-S
 GP2
 AE37

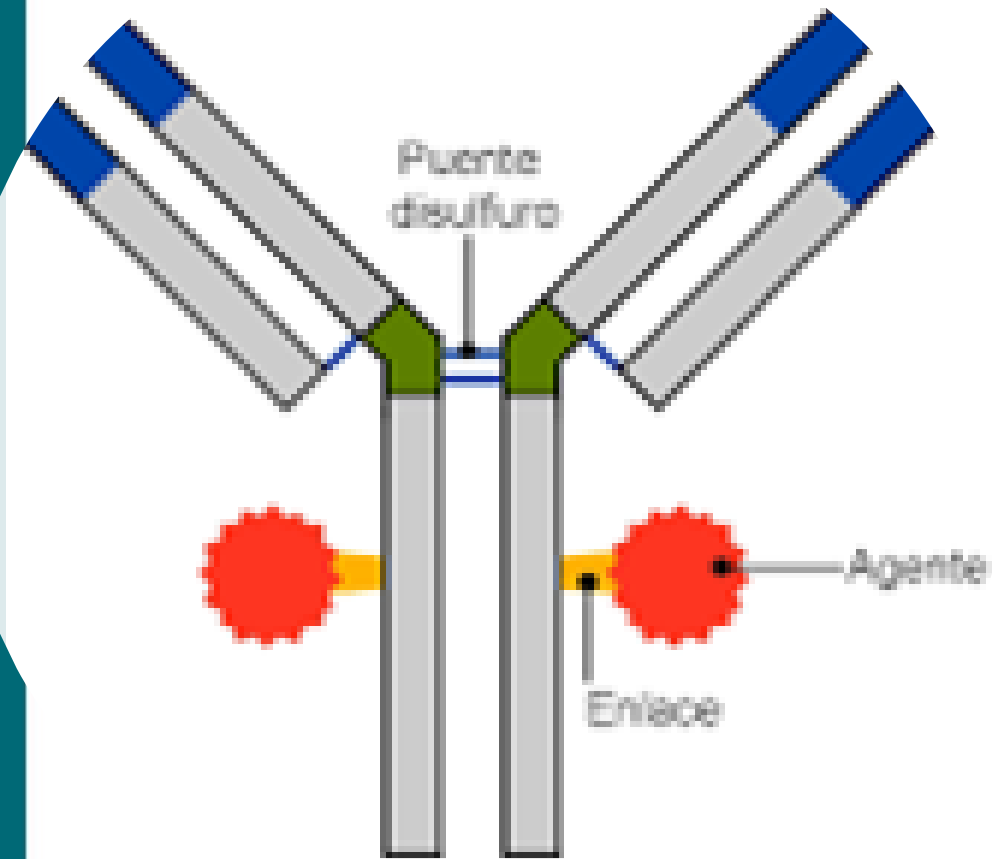
D**VACCINES**

DROGAS CONJUGADAS (ADCs)

- T-DM1
- Trastuzumab duocarmazine (SYD-985)
- Trastuzumab deruxtecan (DS-8201)
 - Her2-positivos
 - Her2-Low



ANTICUERPOS MONOCLONALES EN HER2 LOW



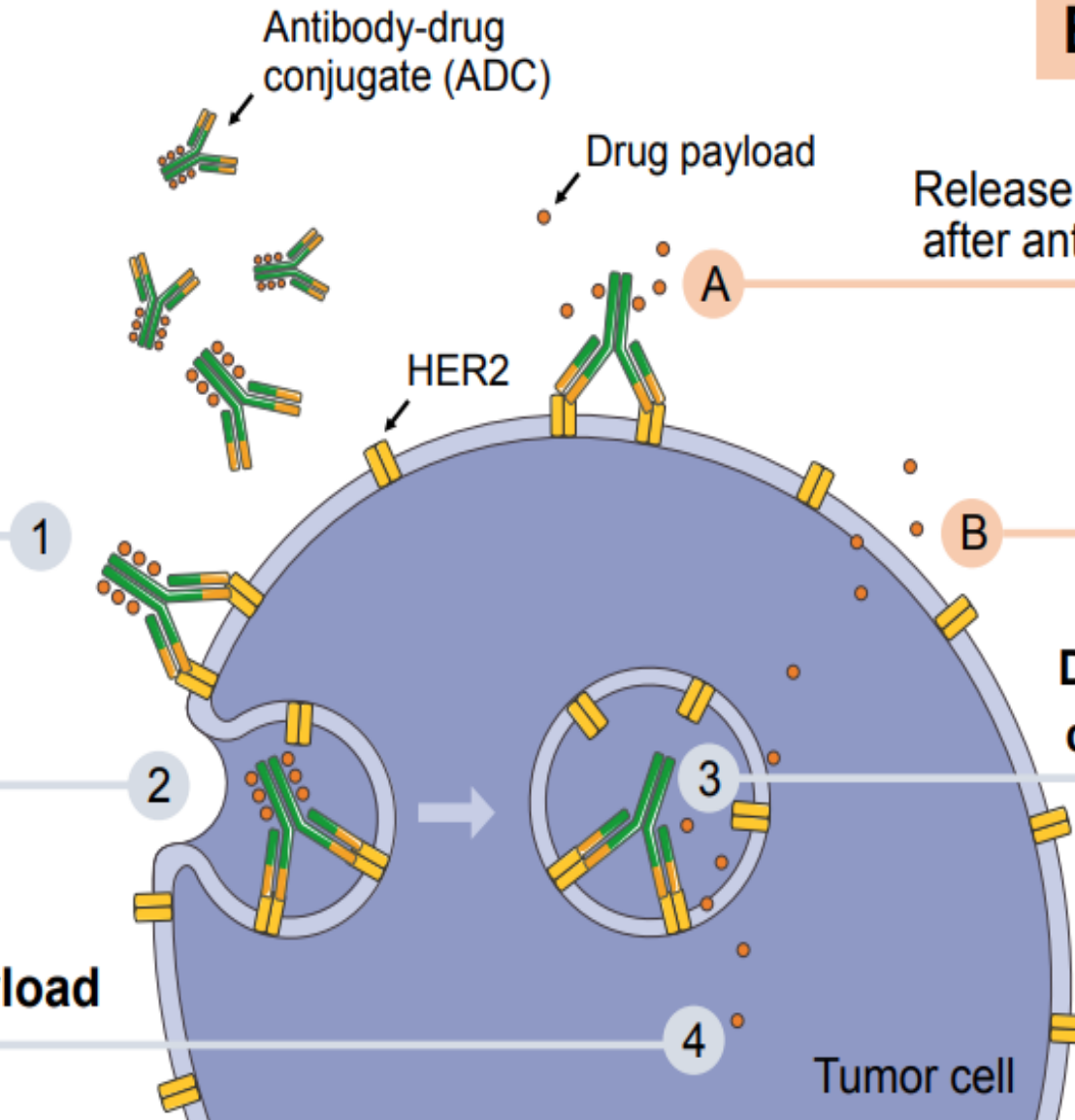
- ADCs: mAbs unidos por enlaces covalentes a agentes citotóxicos
- Combinan selectividad de terapia dirigida con citotoxicidad de la QT.
- Elementos:
 - mAb (vehículo)
 - Agente citotóxico
 - Linker sintético.

Classical ADC mode of action

ADC binding to HER2 receptor

Internalization by endocytosis

Cytotoxic effect induced by drug payload



Bystander killing effect

Release of drug payload from the antibody after antigen binding before internalization

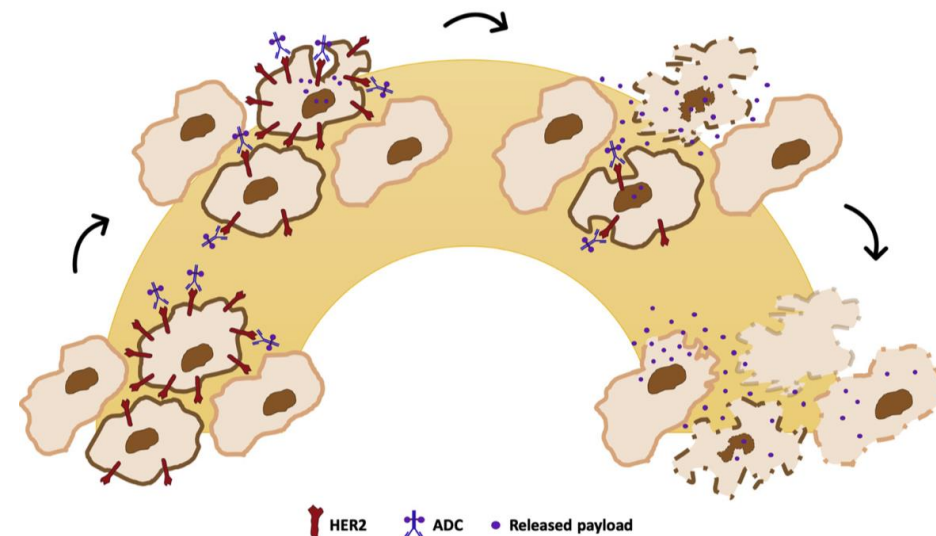
Release of drug payload into the intercellular space due to a high drug membrane permeability

Drug payload release after linker cleavage by lysosomal enzymes

A high drug-to-antibody ratio increases antitumoral efficacy despite a low HER2 antigen density on tumor cells

ADCs

- QT en célula tumoral, reduciendo toxicidad
- Acción no solo en célula que expresa antígenos sino también en células vecinas que no expresan antígenos (bystander killing)



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Seminars in Cancer Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/semcancer



Review

Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond

Caterina Marchiò^{a,b,*}, Laura Annaratone^{a,b,1}, Ana Marques^{b,c}, Laura Casorzo^b, Enrico Berrino^{a,b}, Anna Sapino^{a,b,*}

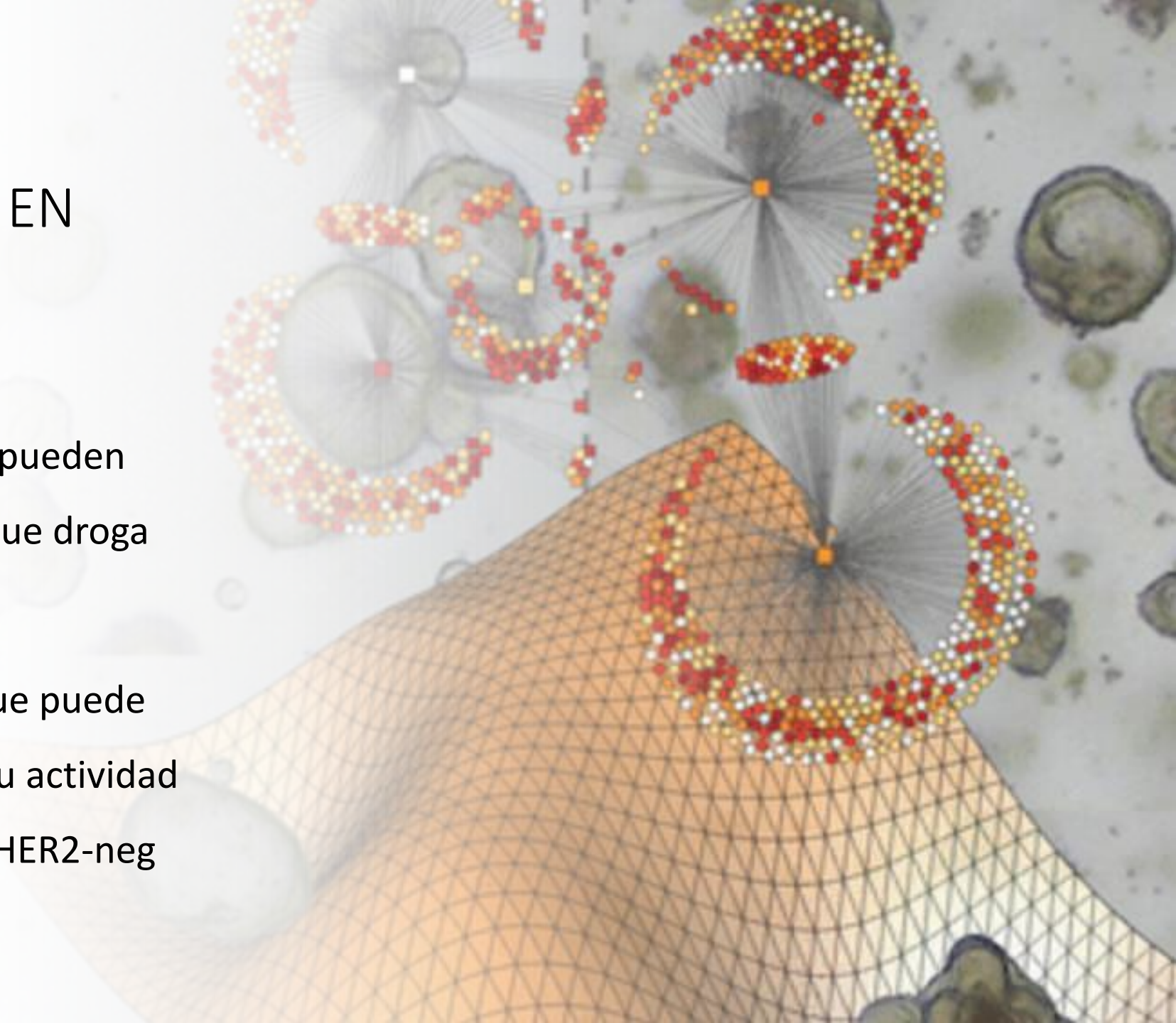
^a Department of Medical Sciences, University of Turin, Turin, Italy

^b Pathology Unit, Candiolo Cancer Institute, FPO-IRCCS, Candiolo, Italy

^c Pathology Unit, Centro Hospitalar São João, Porto, Portugal

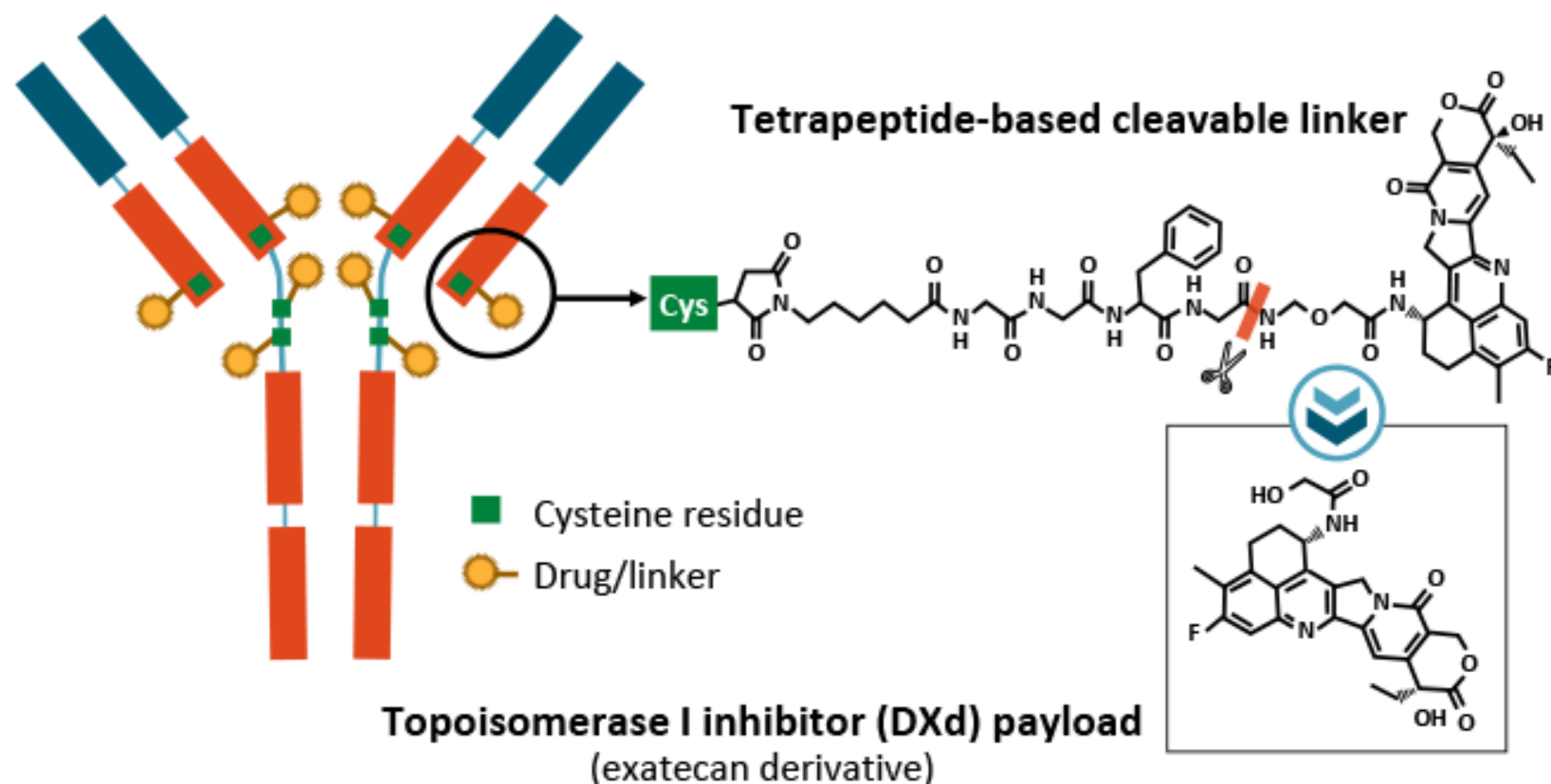
FACTORES RELEVANTES EN MECANISMO ACCIÓN

- Mínima cantidad de receptores pueden ofrecer anclaje suficiente para que droga trabaje
- Grado de efecto “bystander” que puede ofrecer la droga para expandir su actividad a células vecinas, incluso si son HER2-neg



HER2-Targeted ADC: Trastuzumab Deruxtecan (DS-8201)

Humanized anti-HER2 IgG1 mAb
with same AA sequence as
trastuzumab



- High drug:antibody ratio: ~ 8
- Stable linker-payload
- Tumor-selectable cleavable linker
- High potency, membrane-permeable payload with short systemic half-life
- Bystander killing effect

Trastuzumab Deruxtecan (DS-8201a): The Latest Research and Advances in Breast Cancer

Angeliki Andrikopoulou ¹, Eleni Zografos ¹, Michalis Liontos ¹, Konstantinos Koutsoukos ¹, Meletios-Athanasios Dimopoulos ¹, Flora Zagouri ²

Affiliations + expand

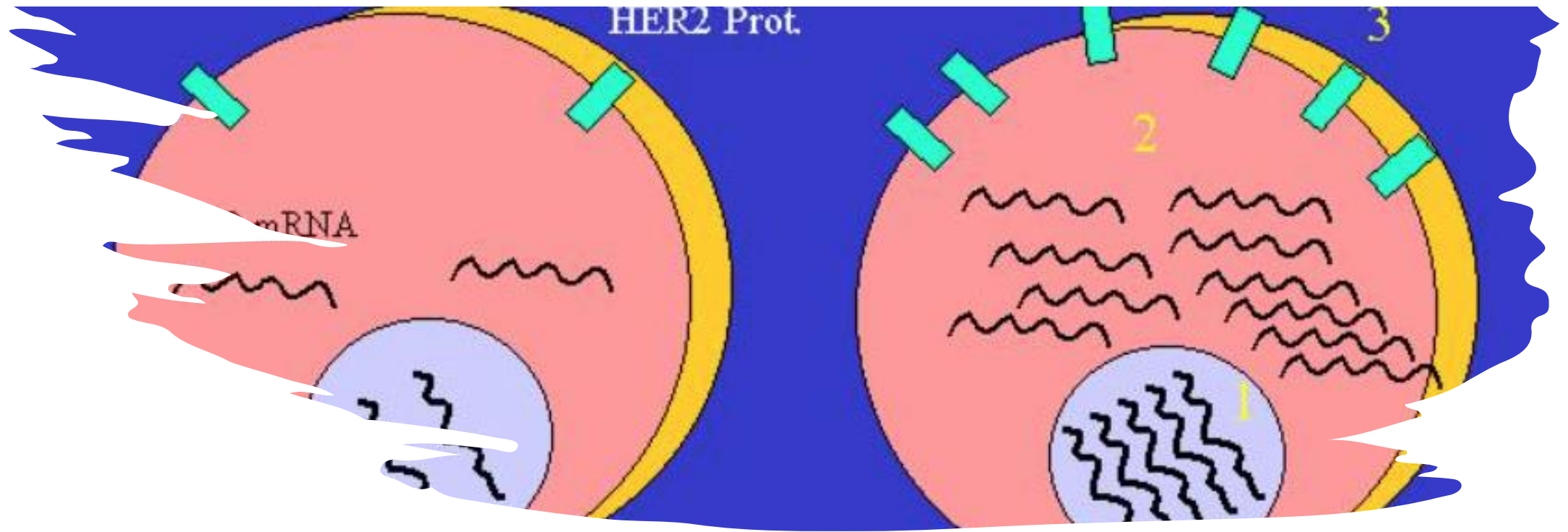
PMID: 32917537 DOI: [10.1016/j.clbc.2020.08.006](https://doi.org/10.1016/j.clbc.2020.08.006)

- DS-8201a
 - Enfermedad HER2-positiva, pretratada
 - Enfermedad HER2-negativa/low-expresión (opciones limitadas)
 - Interestingly, a recently published phase 2 trial ([NCT03248492](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03248492)) reported 60% overall response and 97% disease control in patients with HER2-positive disease previously treated with multiple regimens, including trastuzumab emtansine. On the basis of recent clinical trials, the US Food and Drug Administration granted accelerated approval to DS-8201a in advanced or unresectable HER2-positive breast cancer pretreated with at least two HER2-targeting treatment lines.

ja y conce
acelerada de
para el tratam
noma metast

TRASTUZUMAB- DERUXTECAN

- Aprobación acelerada de la EMA como monoterapia para pacientes adultos con tumores HER2 + irresecable o metastásico tras dos terapias previas ant-Her2
- Probablemente disponible en España a finales del 2021
- Pendiente de aprobación para nuevas indicaciones



1 / 2+: 100 000 – 500 000

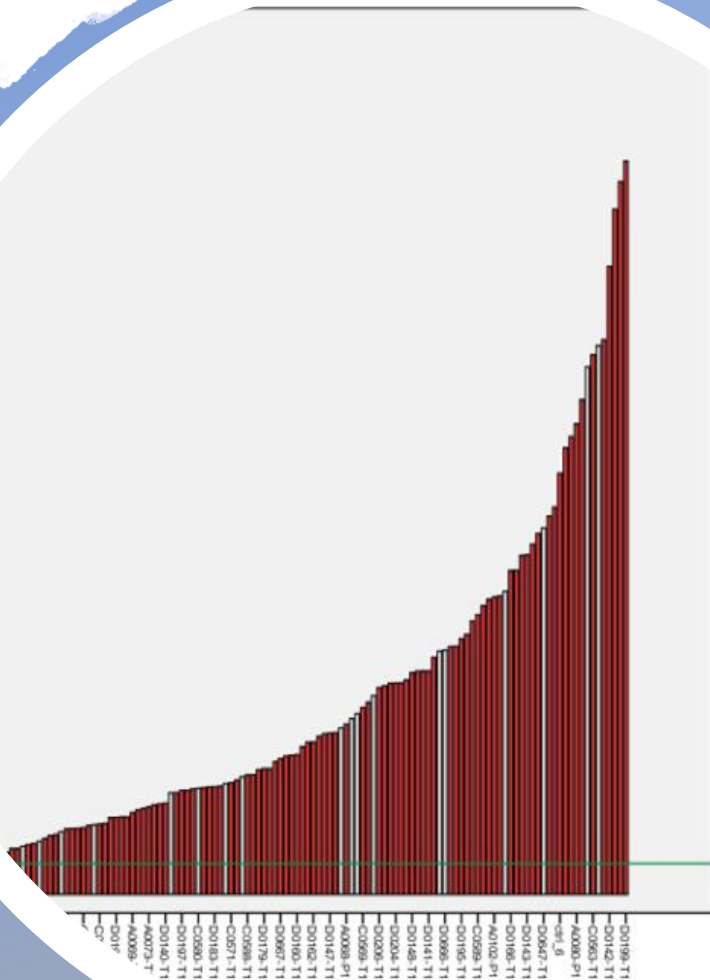
3+. : 2000 000

Low : 1 / 2+ en ausencia de amplificación. Aprox 55% de los carcinomas de mama

BIOLOGÍA CÁNCER DE MAMA

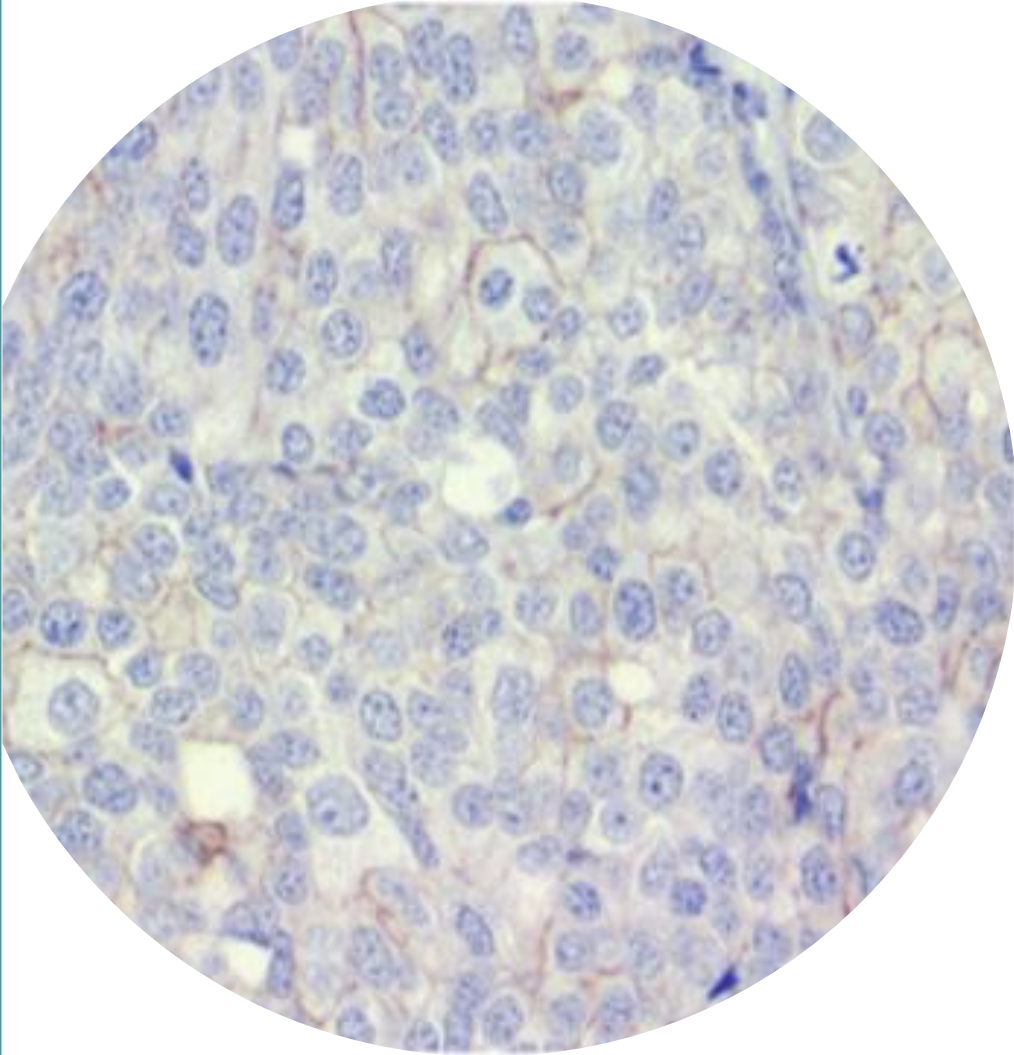
HER2-LOW BC: ¿UNA NUEVA ENTIDAD?

- Distribución continua de expresión de HER2 en células no-amplificadas de ca mama
- Mayor expresión en tumores luminales y stem cells
- Expresión supra-fisiológica de HER2 en ausencia de amplificación:
 - Crosstalk entre vía Her2 y RE
 - Modificaciones inducidas por HT, QT o RT a través vía NF- κ B
 - Cambios epigenéticos



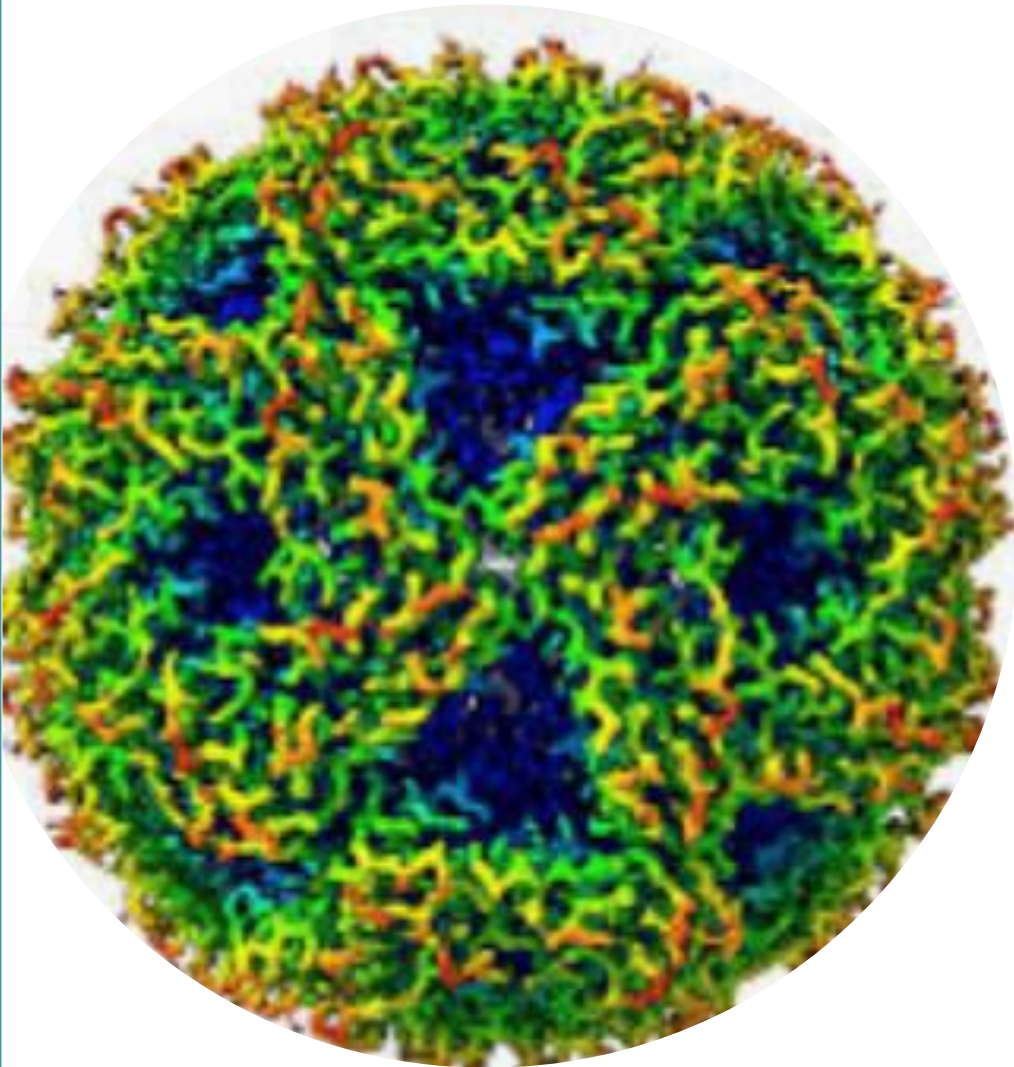
IHQ PARA DIAGNÓSTICO DEL HER2 LOW

- Técnica para establecer estatus Her2 en ensayo seminales de TZ
- Permanece como técnica primaria de inicio para ensayos con nuevas drogas ant-Her2
- Dependiente de condiciones pre-analíticas y analíticas que pueden dejar infra-estimación del Her2 low



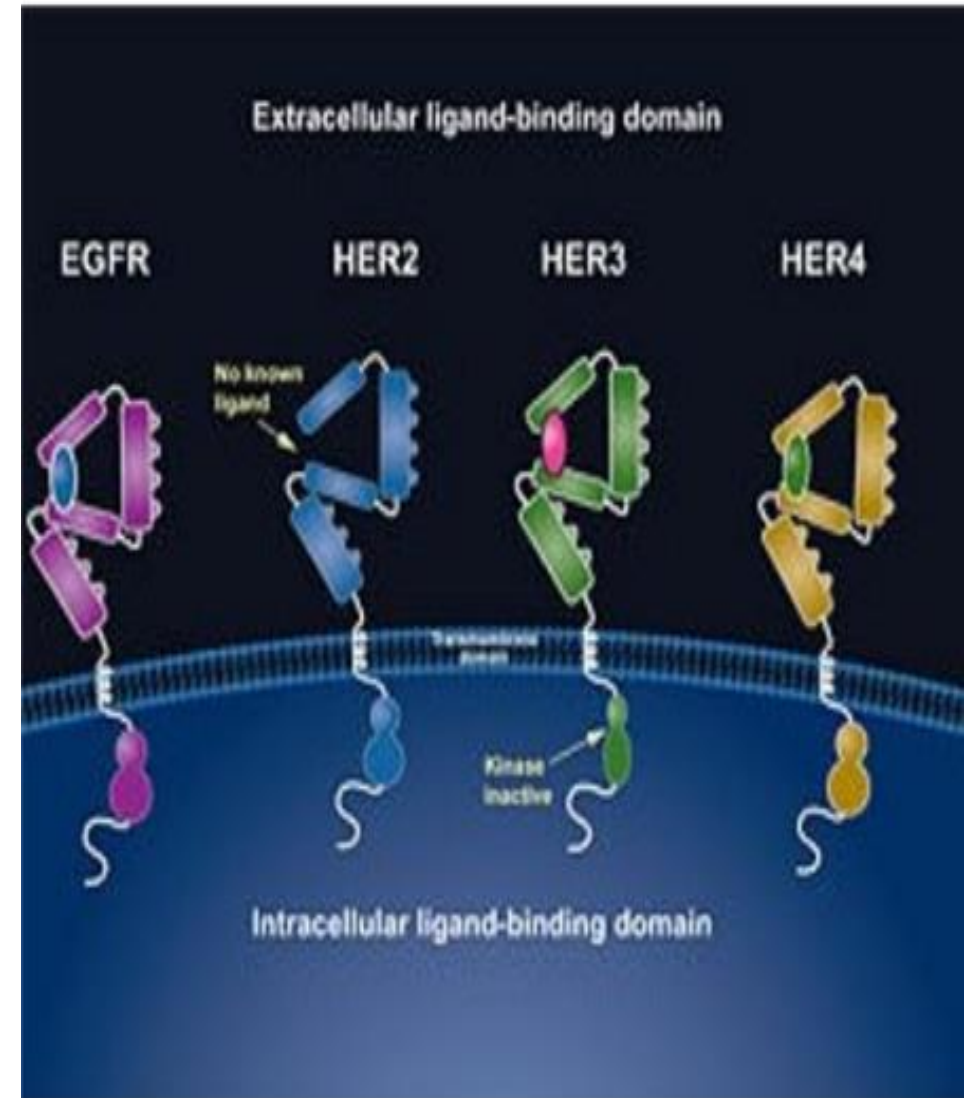
INFRA-DETECCIÓN DE EXPRESIÓN PROTEÍNA

- Formol puede dirigir artificialmente infra-detección de expresión proteína
- Ensayo semi-cuantitativo como IHQ puede no ser suficientemente sensible para detectar niveles de expresión “low”
- Score (0) puede reflejar limitación artefactual de la técnica más que ausencia verdadera de la proteína
- Nuevos ensayos cuantitativos bajo investigación para mejorar sensibilidad para detección de Her2



ISH PARA DIAGNÓSTICO DEL HER2 LOW

- Correlación positiva entre HIS y expresión de proteína
- Nueva evidencia pre-clínica sugiere que actividad de algunas nuevas drogas conjugadas puede ser independiente de la amplificación del gen
- Si se confirma, HIS puede **no ser el mejor método** para predecir efecto de estas drogas



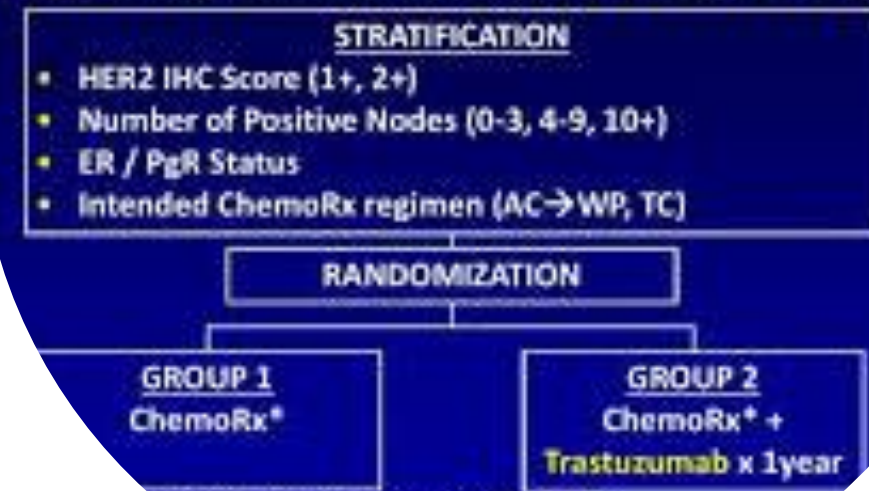
NSABP B-47/NRG Oncology Phase III Randomized Trial Comparing Adjuvant Chemotherapy With or Without Trastuzumab in High-Risk Invasive Breast Cancer Negative for HER2 by FISH and With IHC 1+ or 2

Louis Fehrenbacher^{1 2}, Reena S Cecchini^{1 3}, Charles E Geyer Jr^{1 4}, Priya Rastogi^{1 5}, Joseph P Costantino^{1 3}, James N Atkins^{1 6}, John P Crown^{1 7 8}, Jonathan Polikoff^{1 9}, Jean-Francois Boileau^{1 10}, Louise Provencher^{1 11}, Christopher Stokoe^{1 12}, Timothy D Moore^{1 13}, André Robidoux^{1 14}, Patrick J Flynn^{1 15}, Virginia F Borges^{1 16}, Kathy S Albain^{1 17}, Sandra M Swain^{1 18}, Soonmyung Paik^{1 19}, Eleftherios P Mamounas^{1 20}, Norman Wolmark¹

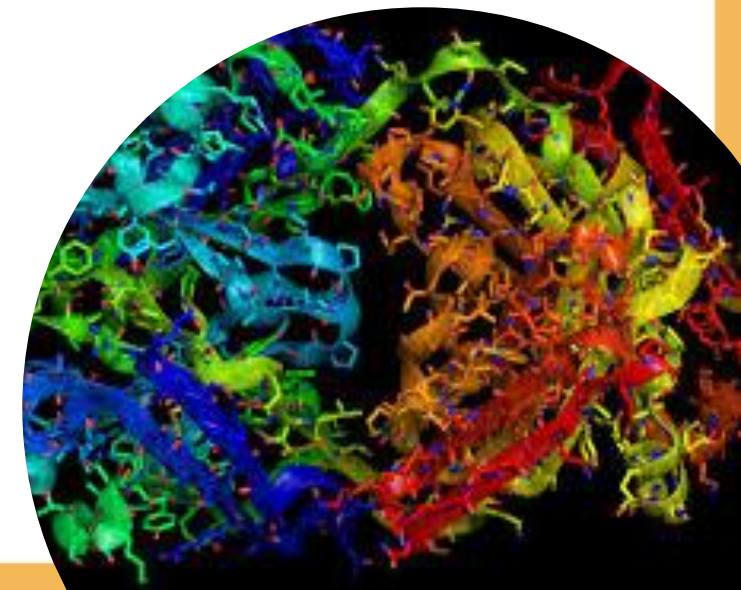
Conclusion: The addition of trastuzumab to CRx did not improve IDFS, distant recurrence-free interval, or OS in women with non-HER2-overexpressing IBC. Trastuzumab does not benefit women without IHC 3+ or FISH ratio-amplified breast cancer.

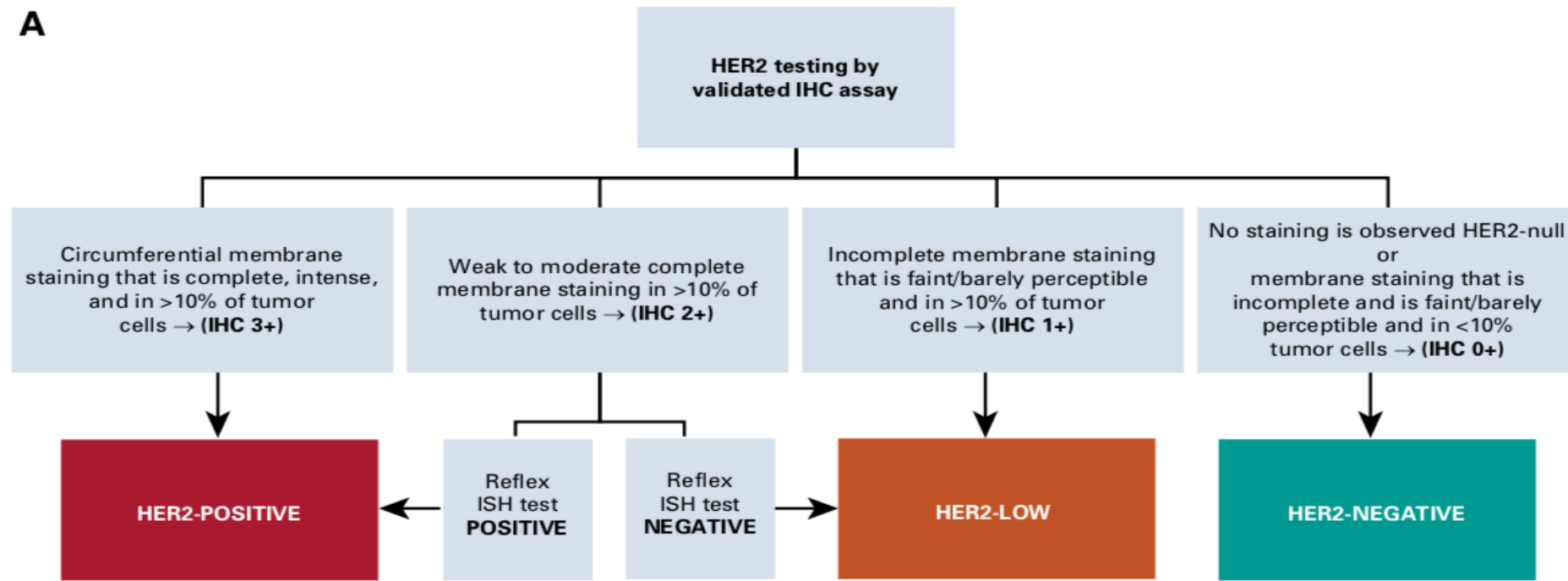
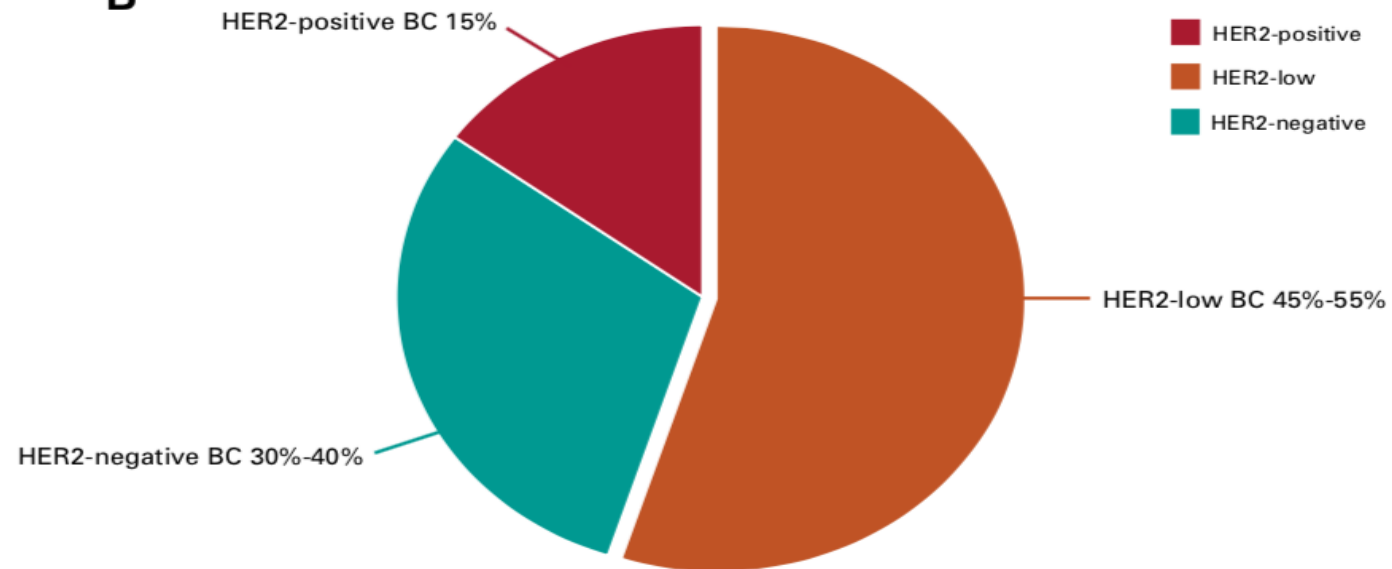
Absence of or low HER2 oncogenic addiction
Absence of efficacy of TZB for HER2-low

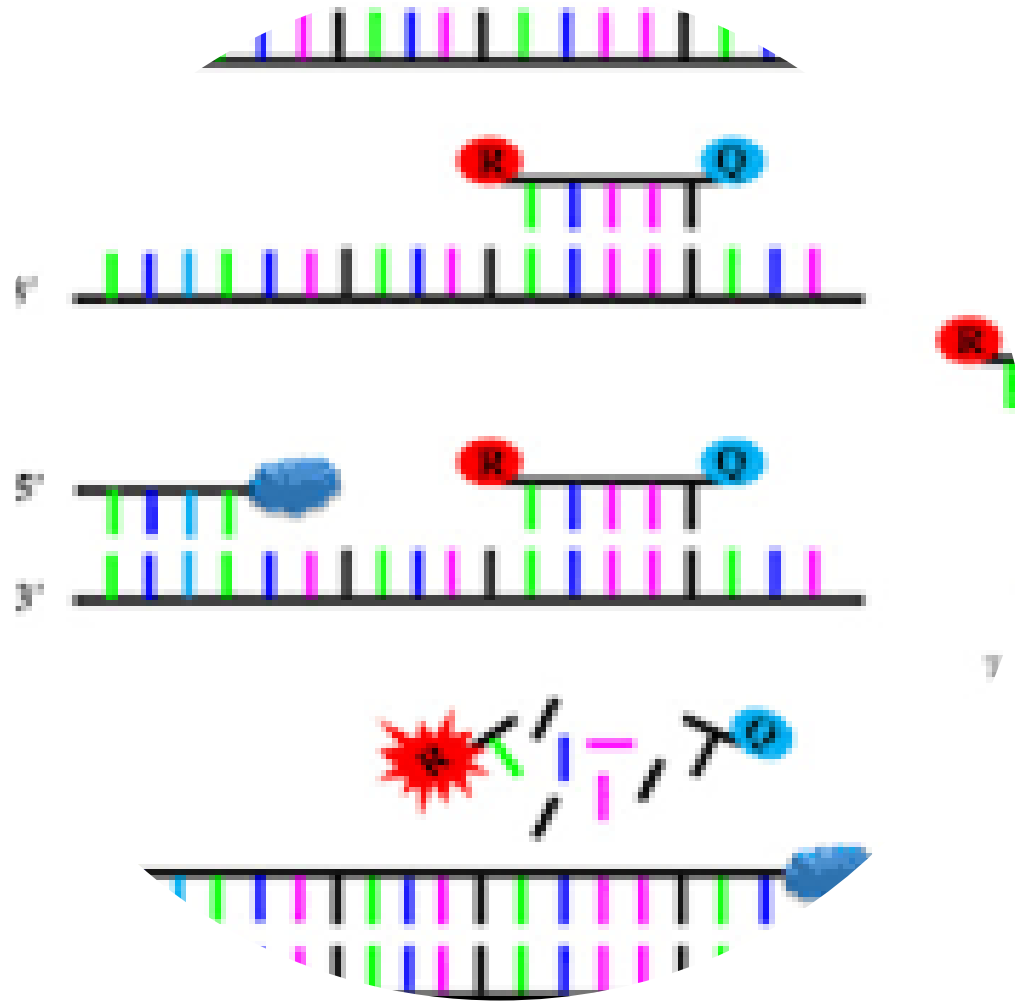
Adjuvant Trastuzumab in HER2 Low Breast



- No existe evidencia de que expresión low sea un factor pronóstico independiente
- Factor predictivo de no-respuesta a TZ (NSABP-B47)
- Factor predictivo potencial de respuesta a nuevos agentes con mecanismos de acción específicos
- Nuevos retos para un nuevo paradigma



A**B**



qRT-PCR

- Estandarización
- Objetivo
- Automático
- Aplicable incluso a muestra pequeñas (BAG)
- ***Resultados comparativos con IHQ/ISH en conflicto***
- Necesidad de ensayos clínicos para validación

IMPLICACIÓN CLÍNICA DEL DIAGNÓSTICO

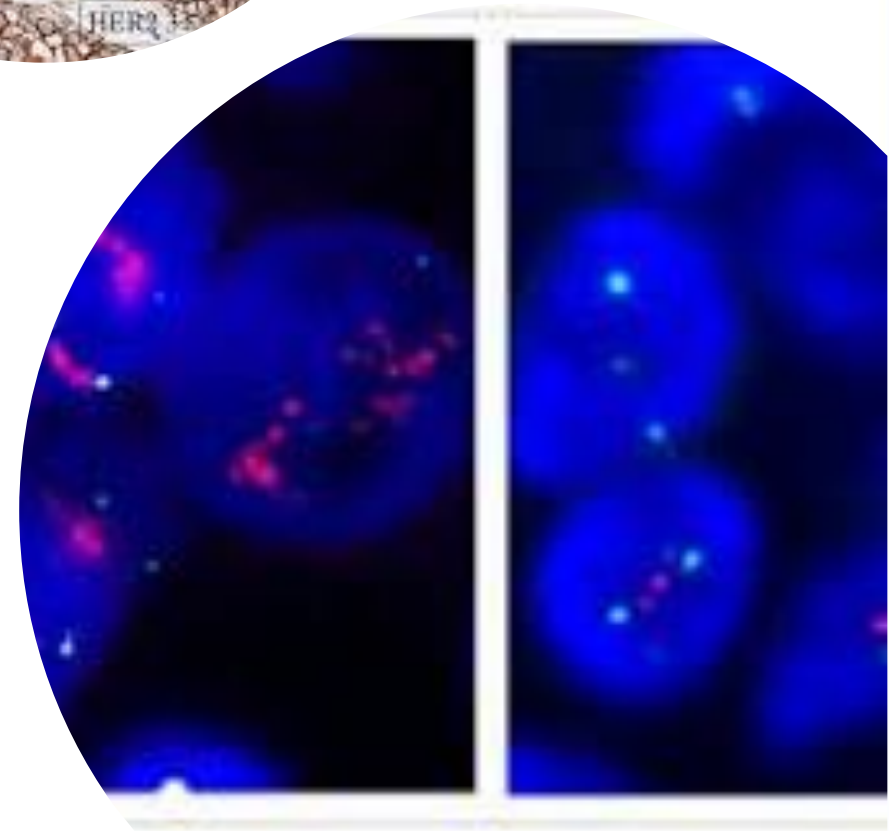
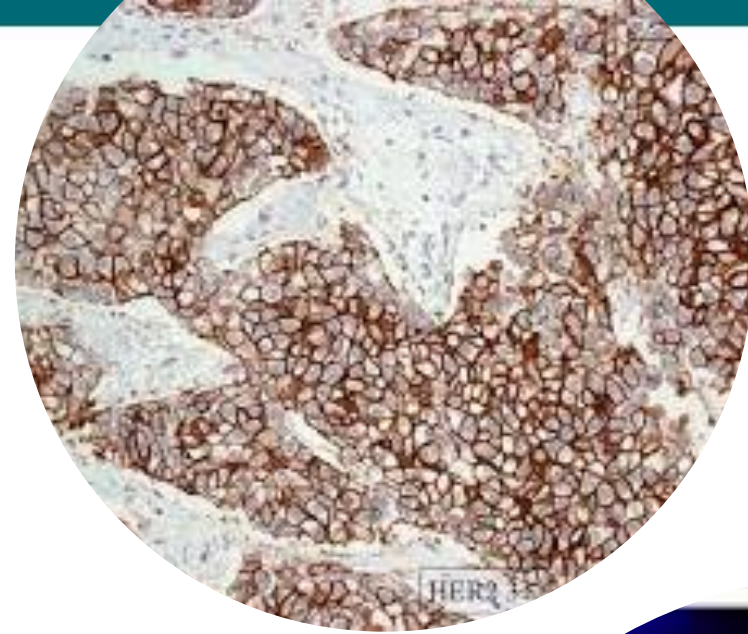
Study ID	Phase	Design	Patients	Criteria	Notes
NCT03523572	Ib	R	99	Pretreated, advanced HER2-low-expressing (IHC 1+ or 2+ ISH-negative) BC	DS8201
(Daichi Sankyo) NCT03368196	I	ANR	12	Pretreated advanced BC or adenocarcinoma with any HER2 expression (IHC 1-3+ and/or ISH positive)	DS8201
DS8201a (Daichi Sankyo) NCT03734029 (DESTINY-Breast04)	III	R	540	Pretreated advanced HER2-low-expressing (IHC 1+ or 2+, ISH-negative) BC; centrally assessed	DS8201 v treatment of ph, choice (2:1)
DS8201a (Daichi Sankyo) NCT04042701	I	R	105	Pretreated, advanced, HER2-low-expressing (IHC 1+ or 2+, ISH-negative) BC; centrally assessed	DS8201 + pembrolizumab
SYD985 (Synthon Biopharmaceuticals, Nijmegen, Netherlands) NCT02277717	I	C	185	Pretreated, advanced BC HER2-low-expressing (IHC 1+ or 2+ ISH-negative); locally assessed	SYD985
ARX788 (Zhejiang Medicine, Shaoxing Zhejiang, China) NCT02512237	I	UK	80	Advanced HER2-low-expressing (IHC 2+ ISH-negative) BC; locally assessed	ARX788
ARX788 (Zhejiang Medicine) NCT03255070	I	R	60	Pretreated, advanced, HER2-low-expressing (IHC 2+ ISH negative) BC; locally assessed	ARX788
A166 (Klus Pharma, Cranbury, NJ) NCT03602079	III	R	82	Pretreated, advanced, HER2-low-expressing (IHC 1+ and 2+ without FISH confirmation) BC; locally assessed	A166
PF-06804103 (Pfizer, New York, NY) NCT03284723	I	R	124	Part 2: Pretreated, advanced, HER2-low-expressing (2+ without FISH confirmation) BC; locally assessed	PF-06804103
FS-1502 (Fosun Pharmaceutical, Shanghai, China) NCT03944499	I	NYR	92	Dose escalation: Pretreated, advanced, HER2-low-expressing (IHC 1+ and 2+ without FISH confirmation) BC; locally assessed, with central confirmation	FS-1502
XMT-1522 (Mersana Therapeutics, Cambridge, MA) NCT02952729	I	ANR	120	Pretreated, advanced, HER2-low-expressing (IHC 1+ and 2+ without FISH confirmation) BC; locally assessed	XMT-1522
NCT01355393	III	ANR	50	Stage III/IV HER2-positive BC (IHC 1+ or 2+ or 3+ and/or ISH positive) or stage IV HER2-positive BC treated to NED or stable bone only disease	HER-2/neu...
NCT0118...	I	ANR	33	Advanced "anti-HER2-n..." positive BC	

- Necesitamos definición reproducible
- Puede implicar entre 60-70% de las pacientes con cáncer de mama

DEFINICIÓN CLÍNICA DE CÁNCER DE MAMA HER2- LOW

- Her2- IHQ (1+ o 2+) con HIS- negativa
- Más del 50% de los cánceres de mama
- Definición intrínsecamente dependiente de la técnica del test
- Actualmente, sólo aplicable a técnicas standard (IHQ, FISH)

NO ES UNA NUEVA ENTIDAD CLÍNICA





ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Seminars in Cancer Biology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/semcancer



Review

Evolving concepts in HER2 evaluation in breast cancer: Heterogeneity, HER2-low carcinomas and beyond

Caterina Marchiò^{a,b,*}, Laura Annaratone^{a,b,1}, Ana Marques^{b,c}, Laura Casorzo^b, Enrico Berrino^{a,b},
Anna Sapino^{a,b,*}

^a Department of Medical Sciences, University of Turin, Turin, Italy

^b Pathology Unit, Candiolo Cancer Institute, FPO-IRCCS, Candiolo, Italy

^c Pathology Unit, Centro Hospitalar São João, Porto, Portugal

HETEROGENEIDAD TUMORAL

- Frecuencia en cáncer de mama: 1-34%
- Mayor frecuencia en casos equívocos (2+) donde puede llegar al 90%
- Se ha propuesto como causa de resultados equívocos que típicamente muestran bajos niveles de amplificación

ments lists available at Science

Seminars in Cancer Biolo

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/

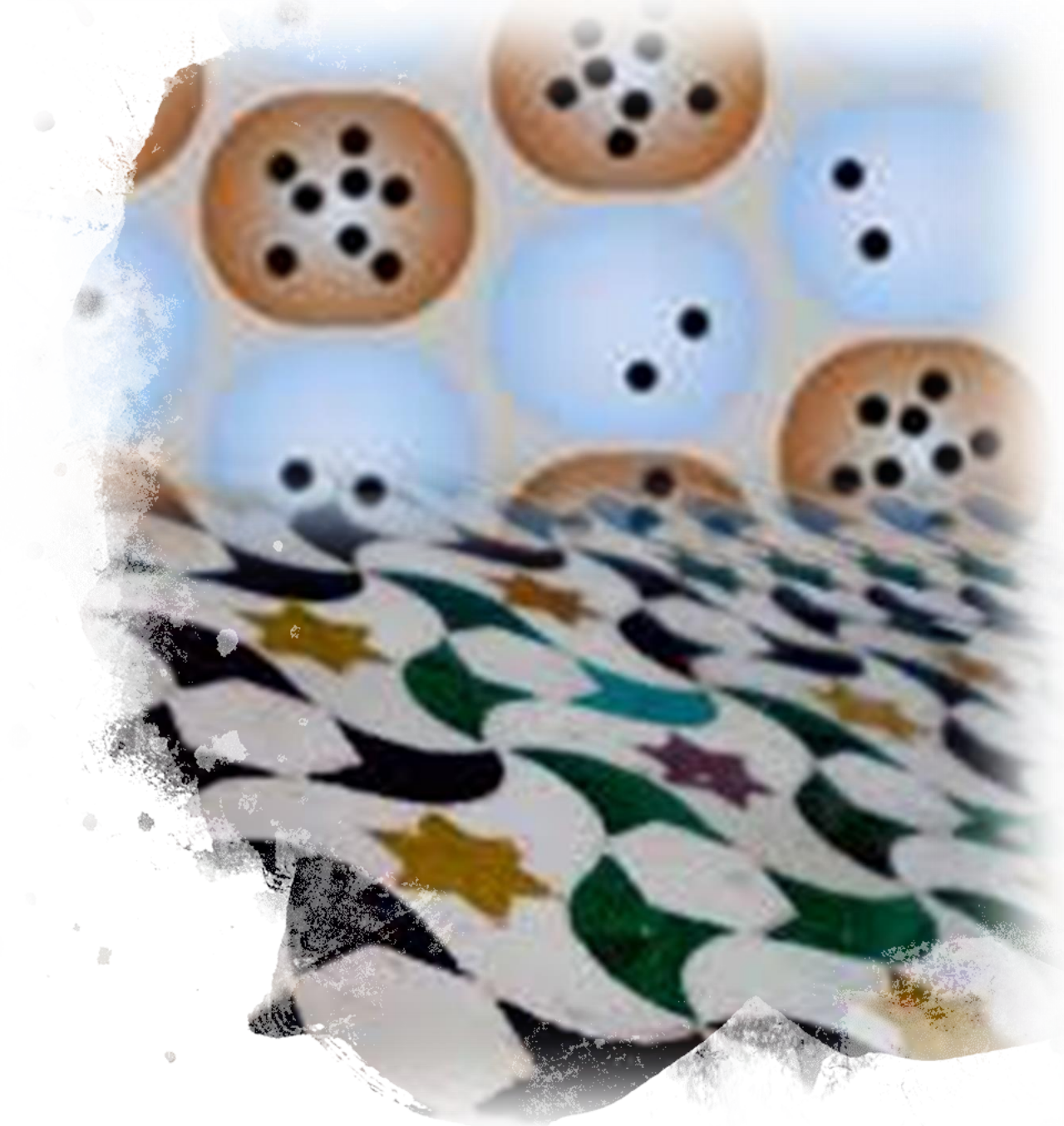
IR2 evaluation in breast cancer:
and beyond

Maratone^{a,b,1}, Ana Marques^{b,c}, Laura Ca

¹Italy

HER 2 LOW

- **Peor pronóstico que los HER2 (-)** incluso cuando se clasifican por inmunofenotipos (Luminal vs TN)
- Preferencialmente **RE+, Luminal B**
- Tienen a tener **mayor índice proliferación y mayor G** en comparación a los RE+/Her2-
- Mayor Heterogeneidad, generalmente de patrón difuso



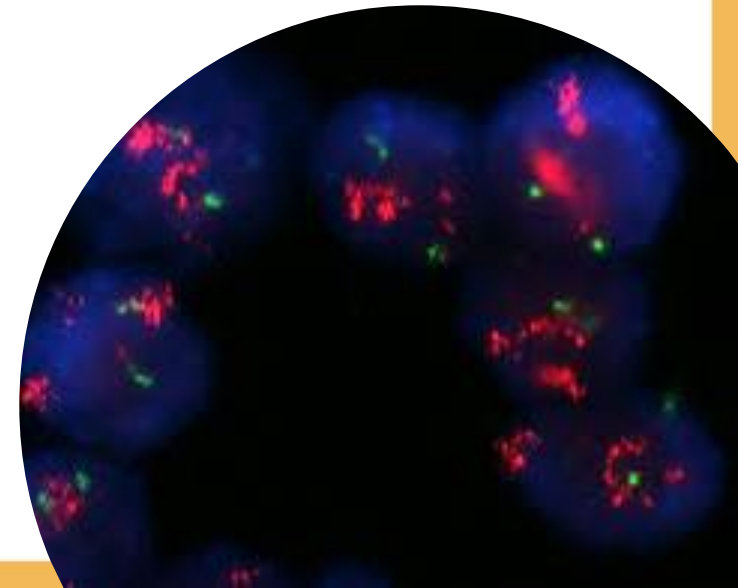
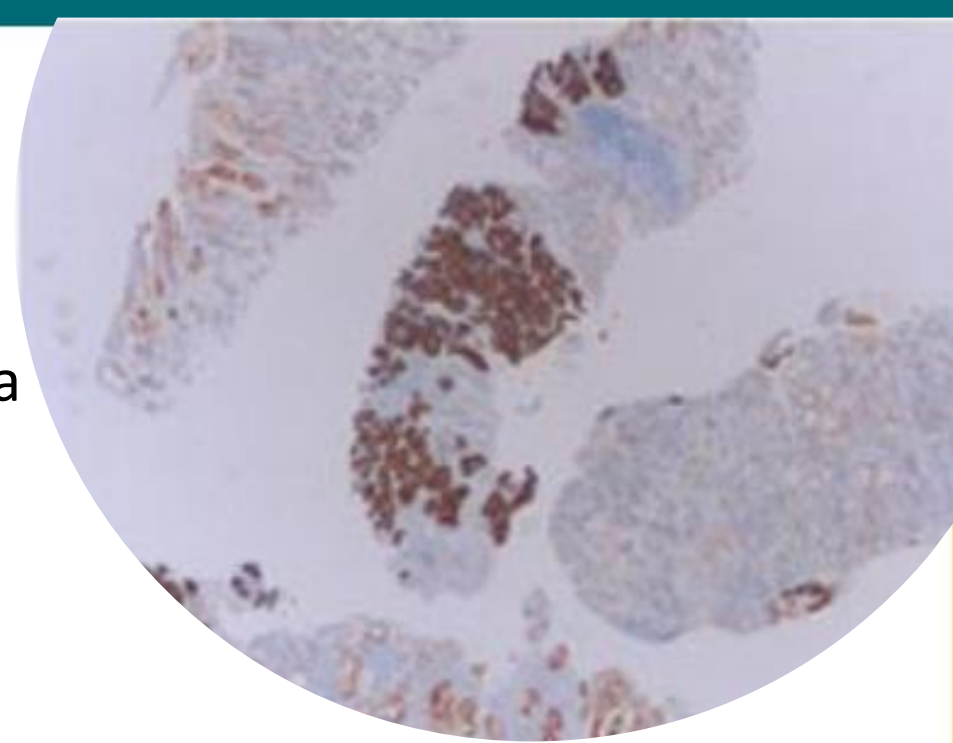
HETEROGENEIDAD

- Datos recientes evidencian mayor respuesta en 2+ que en 1+
- No está claro si grado de respuesta puede variar en función del tipo de heterogeneidad
- **Heterogeneidad en mosaico puede no ser relevante en este contexto por efecto “bystander” de las nuevas drogas**



- POSITIVO - DEFINICIÓN ASCO/CAP

- **IHQ:** Positividad intensa de membrana completa en al menos 10%
- **IHS:** Amplificación en agregado celular de, al menos, 10% de la población tumoral
- **Imperativo** reportar porcentaje de células amplificadas / con sobre-expresión para elegir mejor opción si se plantea terapia con ADc

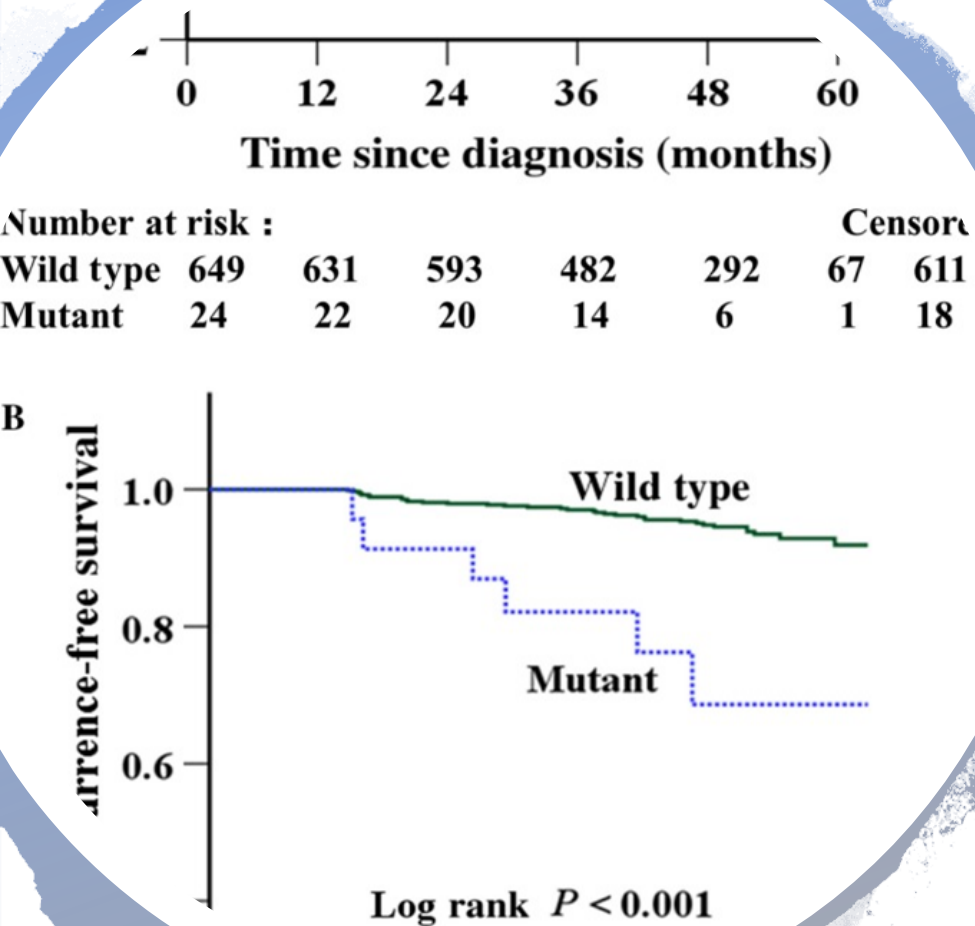




VENTAJAS ADCs

1. Independencia de la vía Her2
2. “Linker” escindible, digerible por enzimas lisosomales, altamente expresados en microambiente tumoral y vesículas endocíticas de la células tumoral, que facilitan efecto asesino “bystander” tanto en células Her+ como en células vecinas Her2 “negativas”, **evitando efecto de la heterogeneidad intratumoral**
3. ADCs tienen conjugados agentes alquilantes anti-ADN e inhibidores topoisomerasa I por lo cual tienen mayor actividad citotóxica

MUTACIONES ACCIONABLES

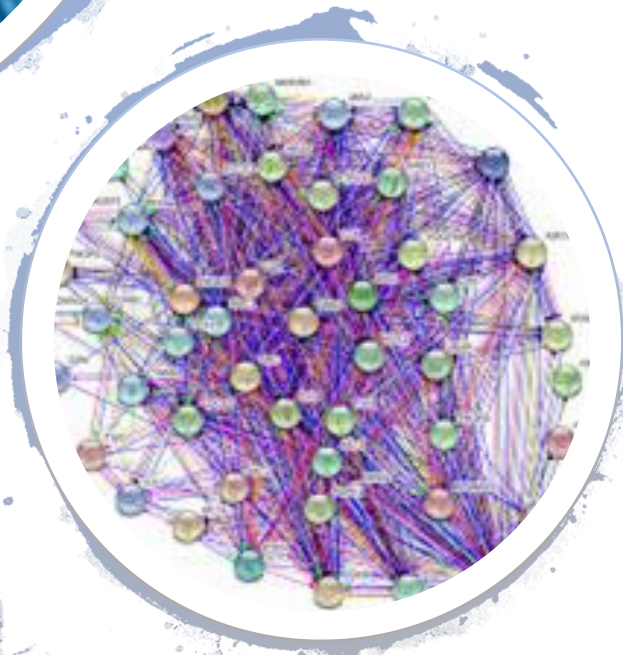
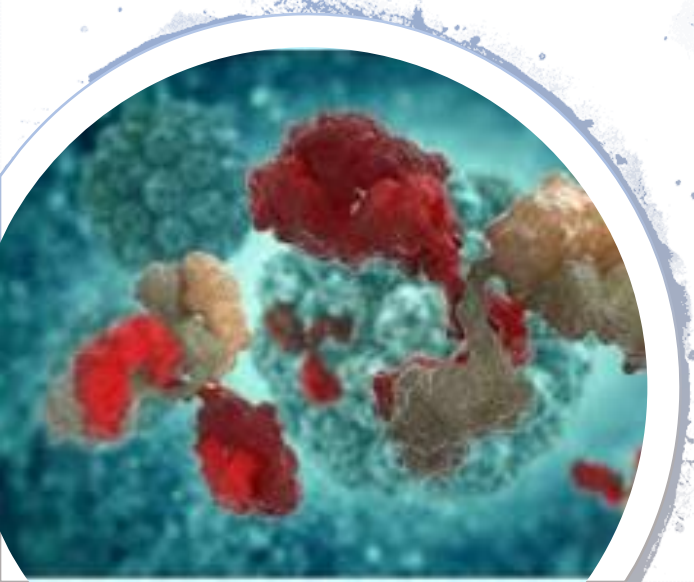


- Frecuencia: Aprox 2% de los ca de mama, > en Her2 Low
- 2,3% de los ca de mama no amplificados muestran alguna mutación somática y pueden potencialmente beneficiarse de terapia dirigida
- Her2- negativos con mut somáticas tienen mal pronóstico



MUTACIONES HER2

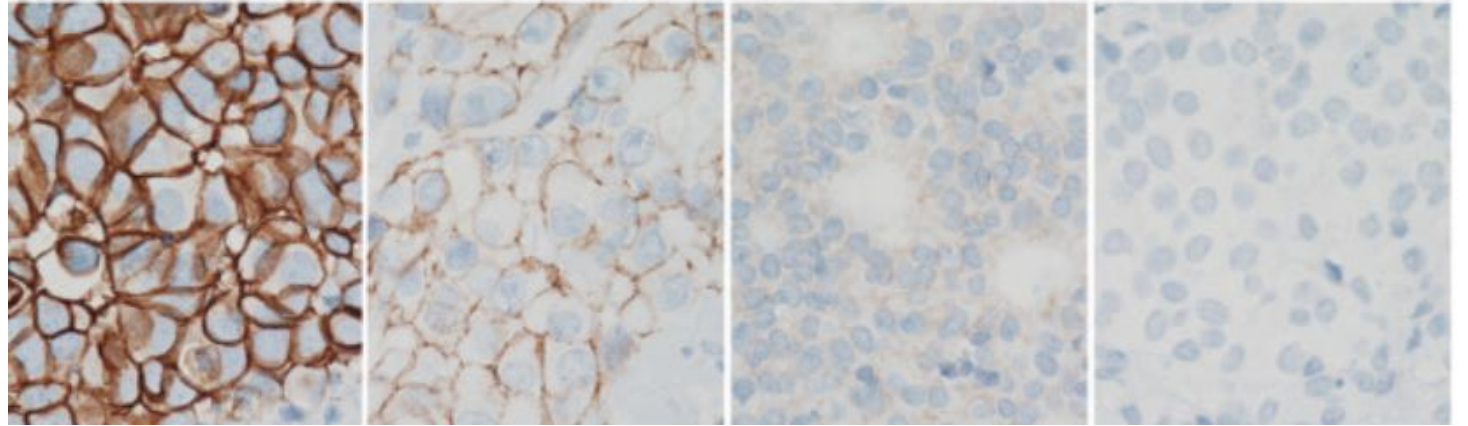
Posibles dianas de ITK
específicos (neratinib)



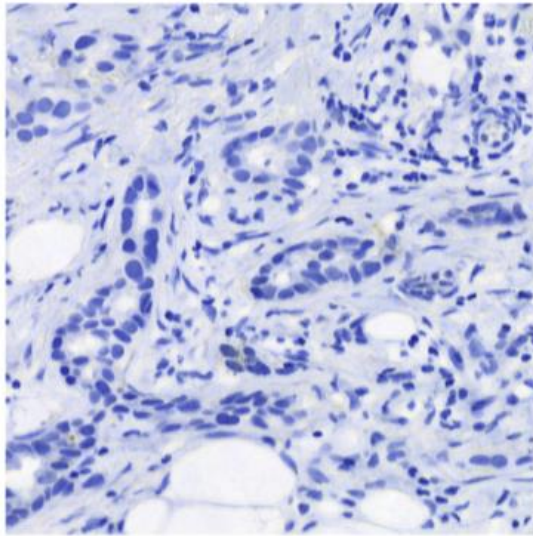
ANTICUERPO CONJUGADO

- Neratinib
- Pozotinib
- Pyrotinib
- ADCs

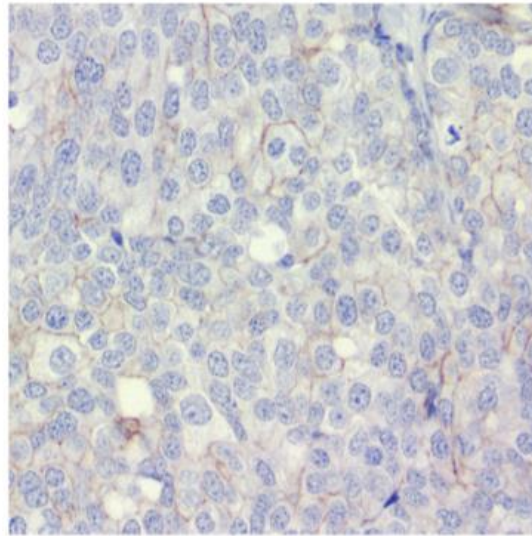
CAMBIO DE PARADIGMA EN DEFINICIÓN ESTADO HER2



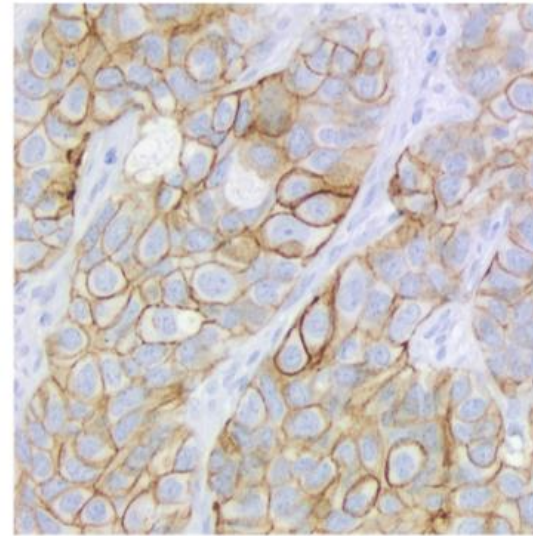
- POSITIVO
- NEGATIVO
- “LOW”: Puede representar un ejemplo de carcinomas susceptibles de beneficio a terapia dirigida, incluso en ausencia de adicción de las células tumorales al oncogen HER2



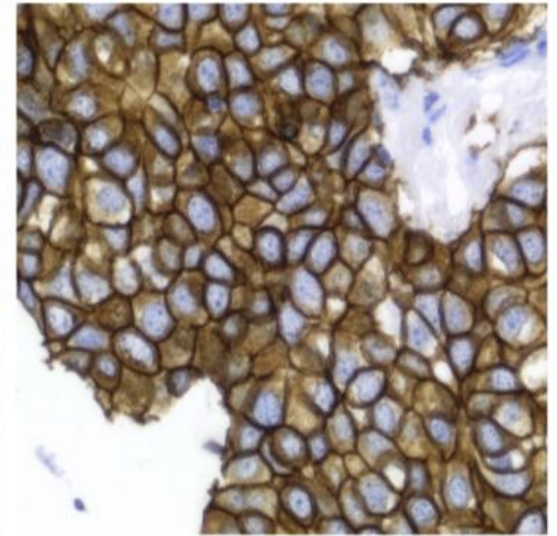
**HER2
SCORE 0**



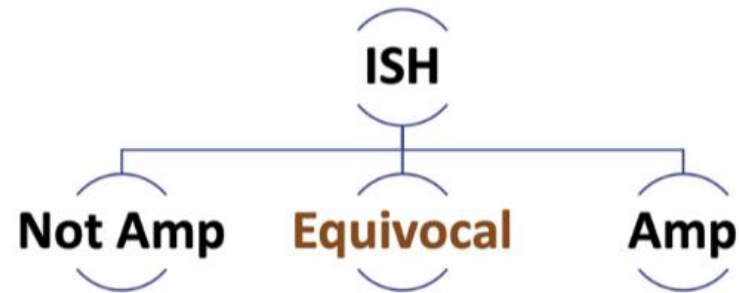
**HER2
SCORE 1+**



**HER2
SCORE 2+**



**HER2
SCORE 3+**



HER2-neg carcinomas

No benefit from anti-HER2 agents, lack of HER2 expression and HER2 pathway activation

Spectrum of HER2-low carcinomas

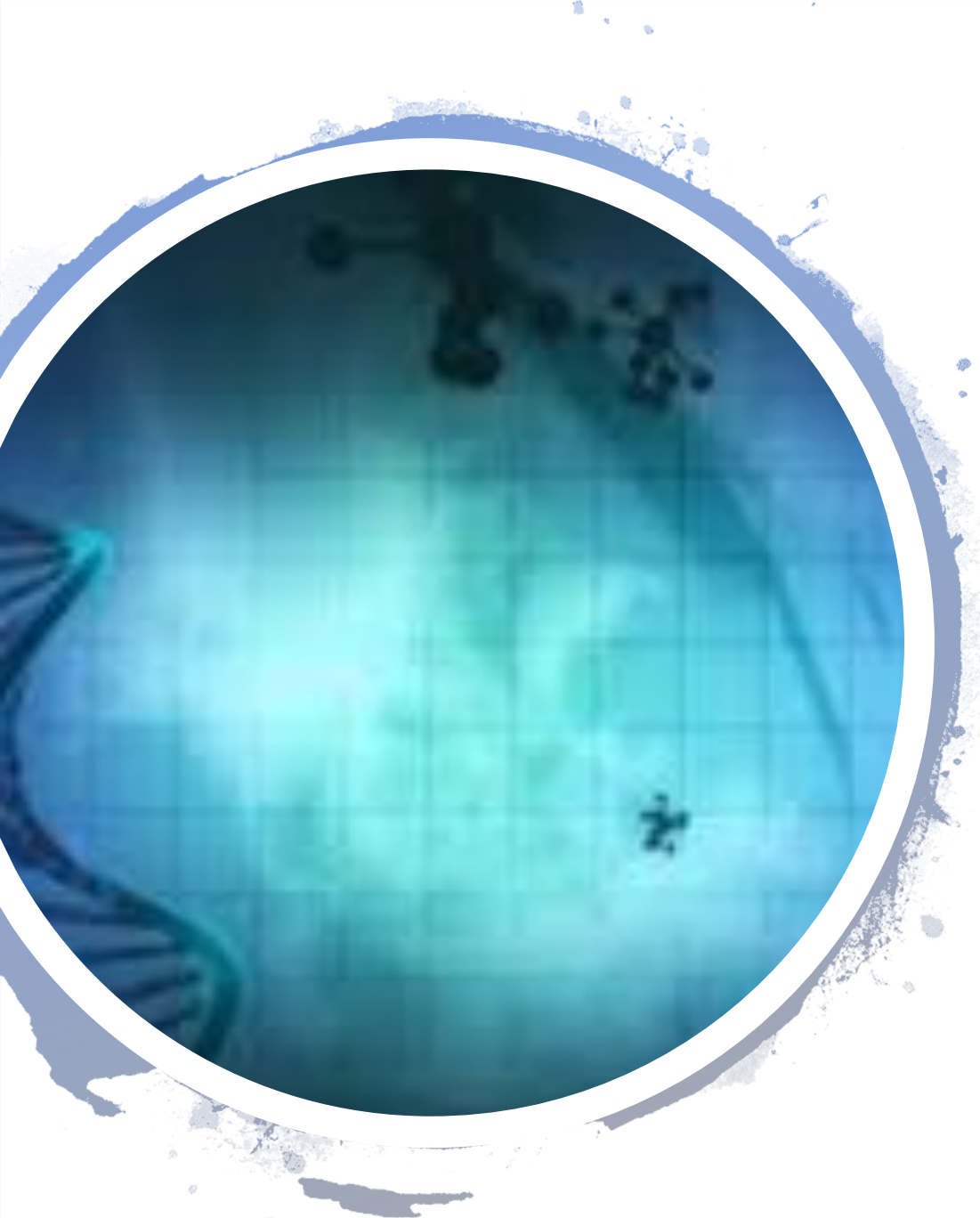
Possible benefit from new generation of ADCs attaching to the HER2 receptors present on the cell membrane and then delivering the chemotherapeutic compounds

HER2-pos carcinomas

Benefit from anti-HER2 agents blocking addition to HER2 pathway hyperactivation stemming from HER2 overexpression and amplification

CONCLUSIONES

- Visión dicotómica del Her2 está caducando
- Más del 55% de los ca mama expresan bajos niveles de Her2 en ausencia de amplificación génica (no adictos al Her2) y pueden beneficiarse de nuevas drogas
- DD entre verdaderos negativos (0) y low puede ser importante (0≠1+)
- Generalmente, son tumores Luminal-like o TN
- A pesar de la variedad de fármacos aprobados para los tumores Her2+, ninguno tiene actividad para los Her2-Low
- Estrategias distintas pueden ser útiles para este grupo de tumores a la luz de los ensayos clínicos “on going” y plantean nuevos retos



RETOS

- Definición “Her2-Low”, especialmente cuando se usan técnicas diagnósticas semi-cuantitativas
- Diferencia biológica entre 0 y 1+ es desconocida y puede representar artefactos de fijación en algunos casos
- Tumores IHQ-0: excluidos de la mayoría de ensayos con Her2-Low, por lo que actividad de los nuevos ADCs en este grupo es desconocida
- Es imperativo desarrollar nuevos ensayos con técnicas cuantitativas
- Hay que comprender mejor efectos secundarios de las nuevas terapias



RETOS

Si se confirma efecto beneficioso de nuevos ADCs en Her2 Low, es necesaria **nueva interpretación** del estado del Her2, más allá de la interpretación binaria usual, teniendo en cuenta heterogeneidad tumoral y posibles mutaciones accionables



Muchas gracias!!
=)