



HAL
open science

uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint®. Valeurs pronostique et prédictive pour une utilité clinique dans la prise en charge du cancer du sein

Elisabeth Luporsi, Jean-Pierre Bellocq, Jérôme Barrière, Julia Bonastre, Jérôme Chetritt, Anne-Gaëlle Le Corroller, Patricia de Cremoux, Frederic Fina, Anne Sophie Gauchez, Pierre-Jean Lamy, et al.

► To cite this version:

Elisabeth Luporsi, Jean-Pierre Bellocq, Jérôme Barrière, Julia Bonastre, Jérôme Chetritt, et al.. uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint®. Valeurs pronostique et prédictive pour une utilité clinique dans la prise en charge du cancer du sein. *Bulletin du Cancer*, 2015, 102 (9), pp.719-729. 10.1016/j.bulcan.2015.05.003 . inserm-02328397

HAL Id: inserm-02328397

<https://inserm.hal.science/inserm-02328397v1>

Submitted on 23 Oct 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Info.suppl.



uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint®. Valeurs pronostique et prédictive pour une utilité clinique dans la prise en charge du cancer du sein ☆

Elisabeth Luporsi^{1,13}, Jean-Pierre Bellocq^{2,13}, Jérôme Barrière³, Julia Bonastre⁴, Jérôme Chetritt⁵,
Anne-Gaëlle Le Corroller⁶, Patricia de Cremoux⁷, Frédéric Fina⁸, Anne-Sophie Gauchez⁹, Pierre-Jean Lamy¹⁰,
Pierre-Marie Martin⁸, Chafika Mazouni⁴, Jean-Philippe Peyrat¹¹, Gilles Romieu¹⁰, Laetitia Verdoni¹²,
Valérie Mazeau-Woynar¹², Diana Kassab-Chahmi¹²

Disponible sur internet le :
30 juillet 2015

1. Institut de cancérologie de Lorraine, 6, avenue de Bourgogne, 54519 Vandœuvre-lès-Nancy cedex, France
2. CHRU, 1, place de l'Hôpital, 67000 Strasbourg, France
3. Centre Antoine-Lacassagne, 33, avenue de Valombrose, 06189 Nice, France
4. Institut Gustave-Roussy, 114, rue Édouard-Vaillant, 94805 Villejuif cedex, France
5. Institut d'histopathologie, 55, rue Amiral-du-Chauffaut, 44100 Nantes, France
6. UMR 912 Inserm, institut Paoli-Calmettes, 232, boulevard Sainte-Marguerite, 13009 Marseille, France
7. Hôpital Saint-Louis, 1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris, France
8. AP-HM, faculté de médecine-secteur Nord, chemin des Bourrelly, 13915 Marseille cedex 20, France
9. CHU Grenoble, 29, avenue Maquis-du-Grésivaudan, 38701 La Tronche, France
10. Institut régional du cancer, 208, avenue des Apothicaires, 34298 Montpellier cedex 5, France
11. Centre Oscar-Lambret, 3, rue Frédéric-Combemale, 59000 Lille, France
12. Institut national du cancer, 52, avenue André-Morizet, 92513 Boulogne-Billancourt cedex, France

Correspondance :

Diana Kassab-Chahmi, Institut national du cancer, 52, avenue André-Morizet,
92513 Boulogne-Billancourt cedex, France.
recommandations@institutcancer.fr



uPA/PAI-1, Oncotype DX™, MammaPrint®. Prognosis and predictive values
for clinical utility in breast cancer management ◇

☆ Le rapport intégral, comprenant l'analyse détaillée des données de la littérature, est disponible sur le site Internet de l'INCa : www.e-cancer.fr.

◇ The complete report is available online at the French National Cancer Institute website: www.e-cancer.fr.

¹³ Coauteurs équivalents.

Copyright

Le présent article est publié par l'Institut national du cancer qui en détient les droits.

Sa réutilisation est possible dès lors qu'elle entre dans le champ d'application de la loi n° 78-753 du 17 juillet 1978 et qu'elle en respecte les conditions (absence d'altération, de dénaturation de son sens et mention de la source et de la date de sa dernière mise à jour).

Contexte et objectifs

Dans la prise en charge des cancers du sein invasifs, les indications de traitement adjuvant par hormonothérapie et/ou chimiothérapie tiennent compte des données cliniques¹⁴, et anatomopathologiques¹⁵. Bien que le bénéfice du traitement adjuvant ait été largement démontré sur la réduction du risque de rechute et du taux de mortalité, les indications de chimiothérapie dans le groupe des patientes pN0 ont été probablement portées en excès si l'on se réfère aux méta-analyses et aux données sur l'évolution naturelle des cancers [1-6]. Par ailleurs, chez les patientes avec atteinte ganglionnaire (N+), certaines données suggèrent qu'en cas de tumeur HER2 négative exprimant fortement les récepteurs aux œstrogènes, la chimiothérapie n'apporterait pas toujours de bénéfice [7-11]. Des modèles décisionnels d'indication de chimiothérapie fondés sur les critères clinico-histologiques existent, mais ont leurs limites [12]. De ce fait, les pratiques actuelles sont probablement hétérogènes, en particulier au sein des populations considérées à risque « intermédiaire¹⁶ » qui représenteraient 30 à 40 % de l'ensemble des cancers du sein. Le développement des marqueurs biologiques, qu'ils soient déterminés par des méthodes anatomopathologiques (immuno-histochimie ou hybridation in situ), biochimiques ou par biologie moléculaire permettrait de mieux identifier les femmes pour lesquelles un traitement par chimiothérapie pourrait être évité :

- les biomarqueurs tumoraux pronostiques sont utilisés pour prévoir l'évolution clinique d'un processus tumoral spécifique avant traitement. Ils permettent d'identifier les tumeurs à faible risque de récurrence et pour lesquelles une chimiothérapie ne serait pas justifiée ;
- les biomarqueurs tumoraux prédictifs sont utilisés pour prédire la réponse ou non à une thérapie donnée.

Les valeurs pronostique et prédictive de ces tests font respectivement référence à leur capacité à prévoir l'évolution clinique de la maladie avant traitement et à prévoir la réponse à un traitement donnée et donc son bénéfice. Au-delà des valeurs

pronostique et prédictive d'un biomarqueur, la décision de ne pas prescrire une chimiothérapie adjuvante doit s'appuyer sur un test utile cliniquement. Cette utilité clinique doit être notamment évaluée au regard de sa valeur ajoutée (complémentarité de l'information) par rapport aux marqueurs usuels (RH, HER2...) [13,14] et du rapport bénéfice/risque lié à l'utilisation de ce biomarqueur (effets secondaires de la chimiothérapie évités/risque de récurrence de cancer survenant malgré le classement en bon pronostic).

L'Institut national du cancer (INCa) est l'agence sanitaire et scientifique de l'État chargée de coordonner les actions de lutte contre le cancer. Créé par la loi de santé publique du 9 août 2004, il est placé sous la tutelle conjointe du ministère des Affaires Sociales et de la Santé et du ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. L'INCa a pour ambition de jouer un rôle d'accélérateur de progrès au service des personnes malades, de leurs proches, des usagers du système de santé, de la population générale, des professionnels de santé, des chercheurs, des experts et des décideurs. Concrètement, ses missions sont de :

- coordonner les actions de lutte contre le cancer ;
- initier et soutenir des projets de recherche et l'innovation médicale, technologique et organisationnelle ;
- agir sur l'organisation des dépistages, des soins et de la recherche ;
- produire des expertises sous forme de recommandations nationales, de référentiels, de rapports et d'avis ;
- produire, analyser et évaluer des données dans tous les domaines de la cancérologie ;
- favoriser l'appropriation des connaissances et des bonnes pratiques par les différents publics.

L'INCa reçoit le soutien financier d'Unicancer pour la conduite de son programme de recommandations.

En 2009, l'Institut national du cancer (INCa) et la Société française de sénologie et de pathologie mammaire (SFSPM) se sont associés pour évaluer les biomarqueurs tissulaires uPA/PAI-1, Oncotype DXTM et MammaPrint[®]. Les conclusions s'étaient appuyées sur une analyse systématique des données de la littérature (*tableau 1*).

Compte tenu des publications parues depuis 2009 sur ces tests et de la divergence des messages diffusés, les professionnels ont exprimé le besoin de clarifier le débat. En collaboration avec la SFSPM, l'INCa a souhaité mettre à jour ces conclusions.

Cet article présente une actualisation des conclusions du rapport INCa/SFSPM de 2009 sur l'état des connaissances des biomarqueurs tissulaires uPA/PAI-1, Oncotype DXTM et MammaPrint[®] dans la prise en charge du cancer du sein. Ont été étudiées : la valeur pronostique de ces biomarqueurs ; leur valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie et/ou à l'hormonothérapie ; leur valeur ajoutée par rapport aux autres biomarqueurs existants et les techniques d'analyse et leur éventuelle adaptation. En effet, les conditions dans lesquelles se déroulent les phases

¹⁴ Tels que l'âge et le statut ménopausique.

¹⁵ Tels que le statut des récepteurs hormonaux, la surexpression de HER2, la taille tumorale, le grade, l'envahissement ganglionnaire et les angio-invasions.

¹⁶ Défini sur la base des critères cliniques et anatomopathologiques conventionnels : âge, statut ménopausique, taille tumorale, grade histopronostique, envahissement ganglionnaire, les angio-invasions, statut des récepteurs hormonaux et HER2.

TABLEAU I
Conclusions du rapport INCa/SFSPM de 2009

	Valeur pronostique	Valeur prédictive	Technique
uPA/PAI-1	Niveau de preuve élevé (LOE I)	Niveau de preuve intermédiaire (LOE II)	Test biochimique Elisa sur tissu congelé, marquage CE, approuvé FDA
Oncotype DX™	Niveau de preuve intermédiaire (LOE II)	Niveau de preuve intermédiaire (LOE II)	Analyses effectuées par RT-PCR (ARN puis ADNc) sur l'expression de 21 gènes au niveau d'une seule plateforme à partir de blocs fixés et inclus en paraffine
MammaPrint®	Niveau de preuve bas (LOE III)	Il n'y a pas d'études cliniques permettant de conclure à une valeur prédictive	Analyses effectuées par RT-PCR (ARN puis ADNc) sur l'expression de 70 gènes au niveau d'un seul laboratoire. Les échantillons sont issus de tissus cryopréservés ou conservés dans une solution permettant la stabilisation de l'ARN

pré-analytiques et analytiques impactent les résultats des biomarqueurs. Elles sont à prendre en compte lors de toute application en pratique clinique [15,16]. Il en va tout particulièrement de l'influence des modalités de prélèvement, d'acheminement, de stabilisation (par congélation, liquide de préservation ou fixation), du temps d'ischémie froide (délai entre le moment du prélèvement de l'échantillon et sa stabilisation biologique), tous sujets à traçabilité. Une analyse critique des données médico-économiques publiées complète ce bilan. Le document intégral est téléchargeable gratuitement sur le site Internet de l'INCa (www.e-cancer.fr).

Méthode

Organisation de l'expertise

La recherche bibliographique, l'analyse méthodologique et la synthèse des données scientifiques ont été intégralement réalisées par l'INCa. Ce travail a été produit en collaboration avec un groupe de travail pluridisciplinaire représentatif des modes d'exercice et des disciplines concernées par la thématique (cf. *annexe 1*). Les experts de ce groupe de travail externe ont été nommés par l'INCa sur proposition des sociétés savantes sollicitées (SFSPM et FFOM) et suite à un appel à candidature sur le site Internet de l'INCa en mai 2012, après analyse de leur déclaration d'intérêt selon la grille de dépistage prévue par le dispositif de prévention des conflits d'intérêt¹⁷. Les déclarations d'intérêts sont disponibles sur le site Internet de l'INCa. La méthode d'élaboration repose sur l'analyse critique des meilleures données scientifiques disponibles permettant d'attribuer un niveau de preuve aux conclusions issues de la littérature. La

validation d'un facteur biologique pronostique ou prédictif ne repose pas sur les mêmes étapes que celles de la validation d'une intervention diagnostique ou thérapeutique (cf. *annexe 2*). La construction de l'argumentaire s'appuie sur une stratégie bibliographique systématique et explicite¹⁸, complétée d'une analyse critique des données scientifiques de la littérature et sur l'avis argumenté des experts du groupe de travail.

Niveaux de preuve

Dans le rapport de 2009, les 3 niveaux de preuve ou Level Of Evidence (LOE) qui avaient été attribués aux valeurs pronostique et prédictive de chacun des biomarqueurs étaient ceux prévus par la grille décrite par Hayes en 1996 [13] : LOE I : niveau de preuve élevé ; LOE II : niveau de preuve intermédiaire ; LOE III : niveau de preuve bas. Dans ce travail d'actualisation, les niveaux de preuve des conclusions s'appuient à la fois sur la grille de Hayes [13] et sur sa mise à jour, la grille de Simon [17] (parue depuis l'édition du rapport INCa/SFSPM de 2009). Ceci permet de vérifier si un éventuel changement de niveau de preuve (LOE) entre 2009 et 2012 est lié aux nouvelles données ou simplement à l'application de la nouvelle grille. Dans la version de Simon, les niveaux de preuve ont été affinés. Une des particularités de cette nouvelle grille réside dans l'attribution d'un niveau de preuve LOE IB sur la base d'études prospectives-rétrospectives¹⁹, et ce sous-réserve de répondre à l'ensemble des sept critères prévus par cette grille [17,18] (cf. *annexe 2*). Ces deux grilles sont, l'une et l'autre, applicables aux 3 biomarqueurs et permettent d'apprécier de manière pertinente la

¹⁷ Le dispositif de prévention des conflits d'intérêt et les déclarations d'intérêt sont disponibles sur <http://www.e-cancer.fr/deontologie-et-declarations-publiques-dinterets>.

¹⁸ La stratégie bibliographique est précisée dans le rapport intégral, disponible sur <http://www.e-cancer.fr>.

¹⁹ Études s'appuyant sur des échantillons archivés d'un biomarqueur qui avaient été collectés prospectivement dans le cadre d'un essai randomisé non dédié à l'étude de ce biomarqueur.

validité des conclusions relatives aux valeurs pronostique et prédictive des biomarqueurs. À noter que ces grilles d'analyse ne sont pas applicables aux conclusions portant sur les données analytiques ni à celles relatives aux études de corrélation analysées dans ce rapport.

Études de corrélation

Les études de corrélation permettent d'évaluer la valeur ajoutée d'un biomarqueur donné par rapport aux autres outils existants ; cette valeur ajoutée étant indépendante du niveau de preuve des valeurs pronostique et prédictive de ce biomarqueur : une corrélation faible entre 2 marqueurs indique que chacun apporte une information spécifique ; une corrélation forte entre 2 marqueurs indique qu'il y a une redondance d'information.

uPA/PAI-1

uPA et son inhibiteur PAI-1 sont des enzymes protéolytiques qui jouent un rôle important dans la dégradation de la matrice extracellulaire et la régulation des protéines d'adhésion impliquées dans la liaison tumorale à la matrice et la migration cellulaire. uPA/PAI-1 sont mesurés par Elisa sur des échantillons protéiques tissulaires.

Valeur pronostique

Chez les patientes pN0, les biomarqueurs uPA/PAI-1 ont une valeur pronostique de la survie sans récurrence à 10 ans (niveau de preuve élevé : LOE IA selon Simon). Cette conclusion repose principalement sur un essai clinique « Chemo-N0 » dans lequel uPA et PAI-1 étaient analysés de manière prospective [19]. L'analyse intermédiaire sur 553 patientes (pN0, âge \leq 70 ans, 1 cm \leq taille tumorale \leq 5 cm) après un suivi de 32 mois, montre qu'uPA et PAI-1 sont des facteurs pronostiques indépendants statistiquement discriminants (le taux de récurrence est de 6,7 % [2,5-10,8 %] si uPA/PAI-1 sont faibles contre 14,7 % [8,5-20,9 %] si uPA/PAI-1 sont élevés ; RR = 2,8 ; $p = 0,007$). Ces résultats ont été depuis confirmés dans une analyse intermédiaire à 10 ans de l'essai « Chemo-N0 » (le taux de récurrence est de 12,9 % [9,1-18,1 %] si uPA/PAI-1 sont faibles versus 23,0 % [16,9-30,8 %] si uPA/PAI-1 sont élevés ; HR = 1,84 ; $p = 0,017$) [20]. Ces données concordent avec celles d'une analyse rétrospective de données groupées (méta-analyse) qui a été menée sur 8377 données individuelles (sujets avec cancer du sein pN0 et N+) provenant de 17 institutions de 9 pays européens [21] : chez les patientes pN0, en utilisant les valeurs d'uPA/PAI-1 en tant que variable continue, conduisant à 5 sous-groupes, les résultats à 10 ans montrent une différence entre le sous-groupe à risque le plus fort et le sous-groupe à risque le plus faible de 28,2 % en termes de survie globale et de 34,5 % en termes de survie sans récurrence. Un sous-groupe de 20 % des patientes de pronostic particulièrement favorable selon la concentration d'uPA/PAI-1 a pu être identifié. Pour ce groupe, la survie globale à 10 ans et la survie sans récurrence sont respectivement de 87,2 % et de 76,9 %. Pour les patientes N+ ou

pour celles dont les tumeurs expriment fortement les récepteurs aux œstrogènes, seul PAI-1 présenterait une valeur pronostique (niveau de preuve bas : LOE IV-VD selon Simon) [22-24].

Valeur prédictive

Chez les patientes pN0, les biomarqueurs uPA/PAI-1 ont une valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie à base de CMF²⁰ (niveau de preuve élevé : LOE IA selon Simon). Ce protocole n'est néanmoins plus le standard thérapeutique. Cette conclusion repose sur une étude prospective multicentrique incluant 182 patientes pN0 avec des taux élevés d'uPA ou de PAI-1, randomisées entre chimiothérapie à base de CMF ou observation [19]. Les analyses complémentaires du groupe traité montrent que la chimiothérapie adjuvante entraîne une réduction du risque de rechute à 3 ans de 43,8 % [25,26]. Ces résultats ont été depuis confirmés par une analyse intermédiaire à 10 ans de l'essai « Chemo-N0 » qui montre un bénéfice de la chimiothérapie à base de CMF chez les patientes avec des taux élevés d'uPA/PAI-1 (le taux de récurrence est de 21,3 % [13,9-31,9 %] dans le bras « chimiothérapie » versus 32,1 % [22,9-43,8 %] dans le bras « observation » ; HR = 0,48 ; $p = 0,019$) [20]. Lorsque la chimiothérapie est à base d'anthracyclines, uPA/PAI-1 présenteraient une valeur prédictive (niveau de preuve bas : LOE IIIC selon Simon) [27].

Valeur ajoutée d'uPA/PAI-1 par rapport aux récepteurs hormonaux et HER2

À ce jour, aucune étude prospective ne compare la valeur ajoutée pronostique d'uPA/PAI-1 par rapport à RH et HER2.

Considérations pré-analytiques²¹ et analytiques

Les mesures d'uPA/PAI-1 se font sur préparation cytosolique d'un échantillon protéique tissulaire de 50 mg fraîchement prélevé, rapidement congelé et contrôlé sur le plan anatomopathologique. Les prélèvements à distance de la zone cicatricielle engendrée par une ponction-biopsie seraient plus fiables que ceux intéressant la zone cicatricielle (niveau de preuve bas : LOE IIIC selon Simon) [28]. Les mesures sont réalisées par Elisa (Kit Femtelle® d'American Diagnostica). Ce test a été approuvé par la FDA. En Europe, il est labellisé « CE marked In Vitro Diagnostic Device Product ». En France, ce type de test entre dans la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) depuis 2003 sous l'examen de biologie médicale « Paramètres tissulaires en cancérologie : dosages quantitatifs à partir d'une extraction subcellulaire d'un échantillon cryopréservé ». Plusieurs centres réalisent actuellement cette analyse²². Des

²⁰ Cyclophosphamide, méthotrexate et fluorouracile.

²¹ Étapes de collecte, d'acheminement et de conservation des échantillons précédant la technique Elisa.

²² Centres identifiés : centres hospitaliers universitaires (CHU) de Grenoble, Marseille et Strasbourg et centres de lutte contre le cancer (CLCC) de Montpellier, Nantes, Nice et Rouen.

contrôles qualité des analyses sont réalisés par le Receptor and Biomarker Group (RBG) de l'EORTC ; ce groupe est actuellement inclus dans le Pathobiology Group (PBG) de l'EORTC [29]. D'autres modalités pré-analytiques et analytiques (échantillon de moins de 30 mg, technique Elisa sur d'autres kits...) ont été évaluées mais n'ont pas pu être validées [23,30-32].

Oncotype DX™

Oncotype DX™ quantifie l'expression de 21 gènes dont 16 gènes cibles par *reverse transcriptase-quantitative polymerase chain reaction* (RT-qPCR) sur du tissu tumoral fixé et inclus en paraffine. Les 16 gènes incluent principalement des gènes associés à la prolifération, à l'expression de HER2, RO et RP. Le test donne une valeur de Recurrence Score (RS) qui correspond à un niveau de risque de rechute pour chaque tumeur analysée : risque bas, intermédiaire ou haut.

Valeur pronostique

Chez les patientes pN0, RO+ sous tamoxifène, le test Oncotype DX™ a une valeur pronostique en termes de risque de métastases à distance à 10 ans (niveau de preuve intermédiaire : LOE IIB selon Simon). Cette conclusion repose sur 3 études rétrospectives-prospectives réalisées à partir de trois essais cliniques publiés avant 2009 (NSABP-B14, NSABP-B20, ATAC) [33-35]. Parmi ces études, l'étude rétrospective initiale de Paik [33] a permis de développer l'outil Oncotype DX™. À partir d'une cohorte de 668 patientes issues de l'essai du NSABP-B14 évaluant l'efficacité du tamoxifène chez des patientes pN0 RO+ [36], l'étude de Paik a montré une relation statistiquement significative entre le RS et le risque de métastase à distance (RS faible : 6,8 % [4,0-9,6 %] ; RS intermédiaire : 14,3 % [8,3-20,3 %] ; RS élevé : 30,5 % [23,6-37,4 %] ; HR = 3,21 ; $p < 0,001$).

Les réserves suivantes pour ces études sont à considérer :

- certaines d'entre elles ont aussi inclus la cohorte de patientes de l'essai NSABP-B14 qui a permis d'élaborer l'algorithme initial, ce qui induit un biais [33]. La multiplicité des analyses à partir de mêmes cohortes de patientes, et en particulier celles des sous-groupes à partir de ces trois essais, induit des limites méthodologiques à l'interprétation des données ;
- aucune étude rétrospective utilisant des échantillons archivés prospectivement dans le cadre d'un essai clinique randomisé intégrant une nouvelle cohorte de femmes n'a été publiée depuis 2009 ;
- Simon a introduit, parmi les critères nécessaires pour l'attribution d'un niveau LOE IB, la représentativité de l'échantillon analysé (il faut inclure au moins deux tiers de la population de l'essai clinique d'origine dans la cohorte d'échantillons analysés). Aucune des études de sous-groupes publiées ne remplit ce critère (cf. [annexe 2](#)) et ne peut donc justifier d'un LOE IB malgré l'existence d'au moins 2 études convergentes (cf. [annexe 3](#)).

Par ailleurs, d'autres groupes internationaux évaluant les biomarqueurs concluent que le test Oncotype DX™ n'atteint pas un niveau de preuve suffisant (faible ou intermédiaire) pour une utilisation en clinique [14,37-40].

Trois articles, faisant la revue récente du sujet, attribuent à la valeur pronostique du test un niveau de preuve IB. Cependant, la méthodologie de sélection des articles analysés dans ces revues n'est pas explicitée et le niveau de preuve IB n'est pas justifié selon les critères de Simon (nombre d'échantillons analysés > deux tiers du nombre d'échantillons de l'essai initial) [41-43]²³. Pour les tumeurs surexprimant des récepteurs hormonaux (RH+) et HER2 négatives, Oncotype DX™ présenterait une valeur pronostique (niveau de preuve intermédiaire : LOE IIB selon Simon), qu'il s'agisse des patientes pN0 sous anastrozole [35] ou sous tamoxifène [44] ou des patientes N+ sous anastrozole [35] ou sous tamoxifène [35,45]. Bien que concordantes, ces 2 études [35,45] n'ont pas rempli les critères de Simon ; elles ne peuvent donc justifier un LOE IB. Lorsque le grade histologique est inclus dans le modèle multivarié, cette valeur pronostique du RS perd sa significativité (niveau de preuve bas : LOE IV-VD selon Simon) [46].

Valeur prédictive

Chez les patientes pN0, RO+ sous tamoxifène, le test Oncotype DX™ présenterait une valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie adjuvante à base de CMF (niveau de preuve intermédiaire : LOE II selon Hayes). Cette conclusion repose sur une étude rétrospective comparative évaluant 651 patientes pN0 RO+ sous tamoxifène en présence ou en l'absence de chimiothérapie (à base de CMF ou de MF) [47]. Dans le groupe à RS élevé, lorsque la chimiothérapie est ajoutée au tamoxifène, la survie sans métastases à distance à 10 ans passait de 60 % à 88 % (RR = 0,26 [0,13-0,53]). Ce bénéfice est nettement moins clair dans le groupe à RS intermédiaire (survie sans métastases à distance à 10 ans est de 89,1 % vs 90,9 % ; RR = 0,61 [0,24-1,59]) et dans le groupe à RS faible (95,6 % vs 96,8 % ; RR = 1,31 [0,46-3,78]). Ces résultats sont similaires pour la survie sans rechute ou la survie globale. Les données de Paik [47] ont montré que le degré d'interaction entre chimiothérapie et RS est plus élevé qu'entre chimiothérapie et certaines variables clinico-pathologiques (âge, taille tumorale, RH, grade histologique), suggérant une meilleure prédictivité de la réponse à la chimiothérapie par le RS. Ce test permettrait donc de réserver la chimiothérapie à base de CMF à une catégorie de patientes à haut risque de récurrence ou à risque intermédiaire (niveau de preuve intermédiaire : LOE IIB selon Simon).

Les nouvelles données parues depuis la publication de l'étude de [47] ne sont pas de nature à modifier ce niveau de preuve.

²³ NCCN : National Comprehensive Cancer Network.

Ces conclusions sont en accord avec celles d'autres groupes internationaux évaluant les biomarqueurs qui attribuent à Oncotype DX™ une valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie adjuvante (CMF/MF²⁴), un niveau de preuve au mieux intermédiaire [37-39,43,48,49].

Dans d'autres sous-populations (patientes N+, RO+ sous tamoxifène), Oncotype DX™ présenterait une valeur prédictive de réponse à la chimiothérapie adjuvante à base d'anthracyclines pour les patientes à RS élevé (niveau de preuve intermédiaire : LOE IIB selon Simon) [45]. Pour l'hormonothérapie néoadjuvante (tamoxifène ou anastrozole), les données ne sont pas suffisantes pour conclure (niveau de preuve faible : LOE IIIC selon Simon) [50].

Valeur ajoutée d'Oncotype DX™ par rapport aux marqueurs usuels

Les études de corrélation de la quantification des RH et HER2 fournies en routine par IHC/FISH et par Oncotype DX™ ne sont pas concluantes. Pour HER2, Dabbs et al. rapportent 39 % de discordances [51] alors que Baehner et al. rapportent une concordance significative [52]. Pour les récepteurs hormonaux, 2 études [53,54] suggèrent une concordance entre les mesures par Oncotype DX™ et par IHC. En termes de valeur ajoutée pronostique, les données suggèrent une redondance de l'information apportée par le RS d'Oncotype DX™ par rapport aux marqueurs usuels. En effet, le RS semble significativement corrélé au grade nucléaire, à l'index mitotique [55] ainsi qu'aux RH et au Ki67, ce qui était attendu puisque ces paramètres sont inclus dans le panel de gènes d'Oncotype DX™ [55-61]. À noter que certains scores, incluant des marqueurs usuels tels que le score IHC4 (RO, RP, HER2 et Ki67 mesurés par IHC) [62] ou des algorithmes incluant des données clinico-pathologiques et des biomarqueurs tel que l'outil Adjuvant ! Online (AOL) [35,58], sont corrélés à des niveaux variables au RS. Ces données demandent une confirmation prospective. À noter également que le score IHC4 (validité analytique et clinique) et l'outil AOL ne sont à ce jour pas validés [12].

Considérations pré-analytiques²⁵ et analytiques

Le test d'Oncotype DX™ se fait par RT-qPCR, au niveau d'une plateforme unique (laboratoire Genomic Health, États-Unis) [63]. Néanmoins, la validité pré-analytique du test (qualité de la collecte, durée et qualité de la fixation, conservation et acheminement des échantillons impactant la qualité des ARNm extraits) n'est toujours pas démontrée. Une synthèse canadienne [37] rapporte que la reproductibilité intra-laboratoire

d'Oncotype DX™ (au sein de la plateforme unique de Genomic Health) est validée et qu'il existe, toutefois, un manque de validation externe d'Oncotype DX™. Au total, la phase pré-analytique, déterminante pour la qualité des analyses réalisées, n'est pas standardisée et la phase analytique n'est pas suivie de contrôles de qualité externes.

Des études concernant des tests analysant les mêmes gènes que ceux utilisés dans le test Oncotype DX™ ont été publiées. Elles confirment l'intérêt des gènes utilisés dans la signature Oncotype DX™, en particulier ceux relatifs aux marqueurs usuels tels que RO, RP, HER2 et Ki67. Cependant, elles ne suffisent pas à valider l'utilisation clinique d'Oncotype DX™ [54,64,65].

MammaPrint®

MammaPrint® (signature génomique d'Amsterdam) permet l'analyse simultanée de l'expression de 70 gènes par puces à ADN à partir de tissu tumoral congelé.

Valeur pronostique

Chez les patientes pN0 âgées de moins de 61 ans dont la taille de la tumeur est inférieure ou égale à 5 cm (stade I ou II), le test MammaPrint® présente une valeur pronostique en termes de risque de métastases à distance à 5 ans (niveau de preuve bas : LOE IIIC selon Simon). Cette conclusion repose principalement sur 3 études rétrospectives. Tout d'abord, le test avait été développé à partir d'une série de 78 patientes pN0 âgées de moins de 55 ans et dont la tumeur était inférieure à 5 cm de diamètre [66] (OR = 18 ; $p = 0,00014$). Il a été ensuite évalué sur 295 patientes pN0 ou N+ jeunes [67] (OR = 15,3 ; $p = 0,003$). Ces études avaient montré une relation significative entre MammaPrint® et le risque de métastases à distance à 5 ans. Cette valeur pronostique du test a été ensuite confirmée par une étude indépendante des 2 premières menée sur 307 patientes pN0 âgées de moins de 61 ans [68] (HR = 2,32 [1,35-4,00] ; $p = 0,002$; taux de métastases à distance par groupes non précisés). Les publications identifiées depuis la parution des ces 3 études étudient des sous-groupes cliniques (âge jeune, stade précoce, statut HER2+, RO+ ou N+) [69-75]. Certaines de ces études ont inclus la cohorte de patientes utilisée pour établir la signature génomique [67], engendrant un biais de sélection. Elles ne sont pas de nature à modifier ce niveau de preuve. Nos conclusions sont, globalement, en accord avec celles d'autres équipes internationales qui attribuent à la valeur pronostique du test un niveau de preuve bas [39,40], voire au mieux intermédiaire [14,38].

Valeur prédictive

Peu de données évaluent la valeur prédictive du test notamment en termes de survie sans métastases à distance à 5 ans : les patientes classées à haut risque de récurrence selon MammaPrint® pourraient répondre à la chimiothérapie adjuvante [76] et à la chimiothérapie néoadjuvante [77] (niveau de preuve bas :

²⁴ Cyclophosphamide, méthotrexate et fluorouracile/méthotrexate et fluorouracile.

²⁵ Étapes de collecte, d'acheminement et de conservation des échantillons précédant la technique Elisa.

LOE IIIC selon Simon). Nos conclusions sont en accord avec celles d'autres équipes internationales [39,48].

Valeur ajoutée de MammaPrint® par rapport aux marqueurs usuels

En termes de corrélation avec les marqueurs usuels, les données suggèrent globalement une redondance de l'information pronostique apportée par MammaPrint® : une étude rapporte que ce test est significativement corrélé à l'âge, au grade histologique, aux RO et au diamètre tumoral [66].

Considérations pré-analytiques²⁵ et analytiques

MammaPrint® emploie la technique *microarray* sur des échantillons tissulaires de petite taille (type punch biopsies), congelés ou conservés dans une solution permettant la stabilisation de l'ARN (RNARetain®). L'analyse est centralisée au niveau d'un seul laboratoire en Europe (Agendia, Amsterdam). La faisabilité de l'analyse à partir d'échantillons provenant de plusieurs sites a été démontrée ; ses limites ont été définies : taux minimal de cellules tumorales (cellularité) et délai de congélation [78]. Par ailleurs, les études concernant des tests MammaPrint® « in-house » ont été identifiées ; elles ne peuvent suffire à valider l'utilisation clinique de MammaPrint® [64,65].

Données médico-économiques

Les études médico-économiques publiées depuis 2005 [79-96] portent exclusivement sur les tests génomiques Oncotype DX™ et MammaPrint®. Sur l'ensemble des études économiques publiées, 4 études utilisant une méthodologie appropriée (avec un comparateur explicite et en prenant en compte l'incertitude sur les paramètres cliniques et économiques) ont été identifiées²⁶. Ces études ne permettent pas de conclure sur le résultat coût-efficacité des stratégies utilisant les tests pour guider la décision d'une chimiothérapie adjuvante ; l'impact de l'utilisation des tests génomiques sur les coûts varie selon les études, avec dans certaines un surcoût et dans d'autres une économie. De même, l'impact sur les résultats de santé est incertain et peut se traduire par un gain ou une perte du nombre d'années de vie pondérées par la qualité (*quality-adjusted life years* [QALYS]). D'une manière générale, le niveau de preuve des études médico-économiques a été jugé faible. Ceci est cohérent avec d'autres revues internationales réalisées sur le sujet [37,97]. Les études devraient :

- utiliser des données sources cliniques détaillées avec un recul temporel suffisant pour réaliser des extrapolations de survie crédibles ;

- être menées de manière conjointe aux études cliniques (en utilisant un recueil prospectif des données de consommation de ressources et des données de qualité de vie) pour que les conclusions soient robustes ;
- intégrer une mesure de l'incertitude autour du ratio coût-efficacité en précisant de manière explicite les lois de distribution associées aux différents paramètres ;
- s'appuyer sur une mesure précise des coûts plus que sur des tarifs de remboursement et actualisée au regard de l'évolution des tarifs pratiqués (notamment en cas de molécule pouvant être générique, comme les taxanes).

À noter que l'intérêt des études coût/efficacité prend toute sa valeur lorsqu'un niveau de preuve élevé des valeurs pronostique et/ou prédictive du test est atteint.

Conclusion générale

Chez les patientes pN0, uPA/PAI-1, marqueurs d'invasion, ont un niveau de preuve élevé (LOE IA selon Simon) pour la valeur pronostique de la survie sans récurrence à 10 ans. Il reste à confirmer leur valeur prédictive de réponse aux anthracyclines. Aucune donnée médico-économique sur uPA/PAI-1 n'a pu être identifiée. Pour Oncotype DX™ et MammaPrint®, les valeurs pronostique et prédictive n'ont pas atteint à ce jour le niveau de preuve LOE I. Ce travail confirme les niveaux de preuve précédemment établis dans le rapport de 2009. Par ailleurs, les données ne permettent pas de conclure à une valeur ajoutée de ces deux tests par rapport aux outils existants. Les données médico-économiques ne permettent pas de statuer sur le rapport coût/efficacité des stratégies utilisant ces tests dans la décision thérapeutique compte tenu d'un niveau de qualité insuffisant pour la plupart des études et d'une forte incertitude mise en évidence par les quelques études bien menées. Ces biomarqueurs pourraient avoir une valeur pronostique ou prédictive dans d'autres sous-populations, notamment les patientes N+. Les données doivent encore être validées. Cet état des lieux des connaissances n'a pas concerné l'ensemble des biomarqueurs actuellement disponibles. Il n'a donc pas vocation à hiérarchiser les différents marqueurs sous forme de recommandations. En pratique, au-delà des niveaux de preuve attribuables aux valeurs pronostique et prédictive d'un biomarqueur, l'utilité clinique d'un nouveau marqueur dans l'aide à la prescription d'une chimiothérapie repose sur sa valeur ajoutée par rapport aux marqueurs validés (RH, HER2 et les marqueurs de prolifération comme Ki67) et aux critères anatomocliniques. Puisqu'ils sont les seuls marqueurs validés à témoigner du processus d'invasion, uPA/PAI-1 peuvent apporter une information complémentaire et donc avoir une valeur ajoutée par rapport aux marqueurs existants. Les données de la littérature manquent pour apprécier le poids de cette valeur ajoutée dans la décision de prescrire ou non une chimiothérapie. L'INCa mobilisera les acteurs de la recherche sur le cancer du sein afin de proposer des travaux évaluant l'impact des biomarqueurs sur

²⁶ Existence d'un comparateur clairement défini, la prise en compte de l'incertitude dans la présentation des résultats (i.e. la présence d'intervalles de confiance pour les coûts, le gain en nombre d'années de vie et en nombre de QALYS), l'origine des données cliniques (données publiées et disponibilité de données de survie à long terme).

la décision thérapeutique et ses conséquences. Des nouvelles publications pourraient amener à faire évoluer ces conclusions.

décrite dans le rapport intégral téléchargeable gratuitement sur le site Internet de l'INCa. L'Institut national du cancer a reçu le soutien financier d'Unicancer pour la conduite de ce projet.

Remerciements : les auteurs remercient les sociétés savantes ayant participé à cette expertise. La participation de chacun à ce travail est

Matériel complémentaire

Compléments électroniques (Annexes 1-3) disponibles sur le site Internet de *Bulletin du Cancer* ([doi:10.1016/j.bulcan.2015.05.003](https://doi.org/10.1016/j.bulcan.2015.05.003)).

Annexe 1 Liste des membres du groupe de travail

Annexe 2 Méthodologie de validation d'un marqueur biologique (niveaux de preuve)

Annexe 3 Origine des échantillons collectés dans le cadre des nouvelles études publiées depuis 2009 – Oncotype DXTM

Références

- [1] Hery M, Delozier T, Ramaioli A, Julien JP, de Lafontan B, Petit T, et al. Natural history of node-negative breast cancer: are conventional prognostic factors predictors of time to relapse? *Breast* 2002;11:442-8.
- [2] Sundquist M, Thorstenson S, Brudin L, Wingren S, Nordenskjold B. Incidence and prognosis in early onset breast cancer. *Breast* 2002;11:30-5.
- [3] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Multi-agent chemotherapy for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2002;CD000487.
- [4] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Lancet* 1998;352:930-42.
- [5] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Lancet* 1998;351:1451-67.
- [6] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365:1687-717.
- [7] Albain K, Barlow W, O'Malley F. Concurrent (CAFT) versus sequential (CAF-T) chemohormonal therapy (cyclophosphamide, doxorubicin, 5-fluorouracil, tamoxifen) versus T alone for postmenopausal, node-positive, estrogen (ER) and/or progesterone (PgR) receptor-positive breast cancer: mature outcomes and new biologic correlates on phase III intergroup trial 0100 (SWOG-8814). *San Antonio Breast Cancer Symposium* 2004;37 [Abstr].
- [8] Fisher B, Jeong JH, Bryant J, Anderson S, Dignam J, Fisher ER, et al. Treatment of lymph-node-negative, oestrogen-receptor-positive breast cancer: long-term findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project randomised clinical trials. *Lancet* 2004;364:858-68.
- [9] International Breast Cancer Study Group (IBCSG). Endocrine responsiveness and tailoring adjuvant therapy for postmenopausal lymph node-negative breast cancer: a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1054-65.
- [10] Hayes DF, Thor AD, Dressler LG, Weaver D, Edgerton S, Cowan D, et al. HER2 and response to paclitaxel in node-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2007;357:1496-506.
- [11] Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, Citron ML, Budman DR, Goldstein LJ, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *JAMA* 2006;295:1658-67.
- [12] Institut national du cancer (INCa). Cancer du sein infiltrant non métastatique – Questions d'actualité. Collection Avis & Recommandations; 2012 [online]. Available: URL: <http://www.e-cancer.fr/soins/recommandations/cancers-du-sein>.
- [13] Hayes DF, Bast RC, Desch CE, Fritsche HJr, Kemeny NE, Jessup JM, et al. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1456-66.
- [14] Teutsch SM, Bradley LA, Palomaki GE, Haddow JE, Piper M, Calonge N, et al. The Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) initiative: methods of the EGAPP Working Group. *Genet Med* 2009;11:3-14.
- [15] Sturgeon CM, Hoffman BR, Chan DW, Ch'ng SL, Hammond E, Hayes DF, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines for use of tumor markers in clinical practice: quality requirements. *Clin Chem* 2008;54:e1-0.
- [16] Altman DG, McShane LM, Sauerbrei W, Taube SE. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK): explanation and elaboration. *BMC Med* 2012;10:51.
- [17] Simon RM, Paik S, Hayes DF. Use of archived specimens in evaluation of prognostic and predictive biomarkers. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1446-52.
- [18] Gluck S, Yip AY, Ng EL. Can we replace the microscope with microarrays for diagnosis, prognosis and treatment of early breast cancer? *Expert Opin Ther Targets* 2012;16 (Suppl. 1):S17-22.
- [19] Janicke F, Prechtel A, Thomssen C, Harbeck N, Meisner C, Untch M, et al. Randomized adjuvant chemotherapy trial in high-risk, lymph node-negative breast cancer patients identified by urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor type 1. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:913-20.
- [20] Harbeck N, Schmitt M, Meisner C, Friedel C, Untch M, Schmidt M, et al. Ten-year analysis of the prospective multicentre Chemo-N0 trial validates American Society of Clinical Oncology (ASCO)-recommended biomarkers uPA and PAI-1 for therapy decision making in

- node-negative breast cancer patients. *Eur J Cancer* 2013;49:1825-35.
- [21] Look MP, van Putten WL, Duffy MJ, Harbeck N, Christensen IJ, Thomssen C, et al. Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:116-28.
- [22] Mazouni C, Bonnier P, Romain S, Martin PM. A nomogram predicting the probability of primary breast cancer survival at 2- and 5-years using pathological and biological tumor parameters. *J Surg Oncol* 2011;103:746-50.
- [23] Jelisavac-Cosic S, Sirotkovic-Skerlev M, Kulic A, Jakic-Razumovic J, Kovac Z, Vrbancic D. Prognostic significance of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in patients with primary invasive ductal breast carcinoma – a 7.5-year follow-up study. *Tumori* 2011;97:532-9.
- [24] Mazouni C, Romain S, Bonnier P, Ouafik L, Martin PM. Prognostic significance of tumor-related proteases as a function of the estrogen receptor status. *Cancer Biol Ther* 2011;11:277-83.
- [25] Harbeck N, Schmitt M, Kates RE, Kiechle M, Zenzoum I, Janicke F, et al. Clinical utility of urokinase-type plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 determination in primary breast cancer tissue for individualized therapy concepts. *Clin Breast Cancer* 2002;3:196-200.
- [26] Harbeck N, Kates RE, Schmitt M, Gauger K, Kiechle M, Janicke F, et al. Urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor type 1 predict disease outcome and therapy response in primary breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2004;5:348-52.
- [27] Borstnar S, Sadikov A, Mozina B, Cufer T. High levels of uPA and PAI-1 predict a good response to anthracyclines. *Breast Cancer Res Treat* 2010;121:615-24.
- [28] Haas S, Park TW, Hahne JC, Fischer HP. Influence of preoperative core biopsies on uPA/PAI-1 expression in breast cancer tissue. *Virchows Arch* 2008;452:277-83.
- [29] Sweep CG, Geurts-Moespot J, Grebenshikov N, de Witte JH, Heuvel JJ, Schmitt M, et al. External quality assessment of trans-European multicentre antigen determinations (enzyme-linked immunosorbent assay) of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its type 1 inhibitor (PAI-1) in human breast cancer tissue extracts. *Br J Cancer* 1998;78:1434-41.
- [30] Witzel ID, Milde-Langosch K, Wirtz RM, Roth C, Ihnen M, Mahner S, et al. Comparison of microarray-based RNA expression with ELISA-based protein determination of HER2, uPA and PAI-1 in tumour tissue of patients with breast cancer and relation to outcome. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:1709-18.
- [31] Malinowsky K, Bollner C, Hipp S, Berg D, Schmitt M, Becker KF. UPA and PAI-1 analysis from fixed tissues – new perspectives for a known set of predictive markers. *Curr Med Chem* 2010;17:4370-7.
- [32] Thomssen C, Harbeck N, Dittmer J, Abrahams-Spaeth SR, Papendorf N, Paradiso A, et al. Feasibility of measuring the prognostic factors uPA and PAI-1 in core needle biopsy breast cancer specimens. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1028-9.
- [33] Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2004;351:2817-26.
- [34] Toi M, Iwata H, Yamanaka T, Masuda N, Ohno S, Nakamura S, et al. Clinical significance of the 21-gene signature (Oncotype DX) in hormone receptor-positive early stage primary breast cancer in the Japanese population. *Cancer* 2010;116:3112-8.
- [35] Dowsett M, Cuzick J, Wale C, Forbes J, Mallon EA, Salter J, et al. Prediction of risk of distant recurrence using the 21-gene recurrence score in node-negative and node-positive postmenopausal patients with breast cancer treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study. *J Clin Oncol* 2010;28:1829-34.
- [36] Fisher B, Costantino J, Redmond C, Poisson R, Bowman D, Couture J, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *N Engl J Med* 1989;320:479-84.
- [37] Medical Advisory Secretariat. Gene expression profiling for guiding adjuvant chemotherapy decisions in women with early breast cancer: an evidence-based and economic analysis. *Ont Health Technol Assess Ser* 2010;10:1-57.
- [38] Azim Jr HA, Michiels S, Zagouri F, Delaloge S, Filipits M, Namer M, et al. Utility of prognostic genomic tests in breast cancer practice. *Ann Oncol* 2013;24:647-54.
- [39] Sturgeon CM, Diamandis E. Use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *American Association for Clinical Chemistry (AACC); 2009* [online]. Available: URL: <http://www.aacc.org/members/nacb/LMPG/OnlineGuide/PublishedGuidelines/major/Documents/TumorMarkers.pdf>.
- [40] AGO Breast Committee. Prognostic and predictive factors. Diagnosis and treatment of patients with primary and metastatic breast cancer; 2012 [online]. Available: URL: <http://www.ago-online.de>.
- [41] Weigelt B, Reis-Filho JS, Swanton C. Genomic analyses to select patients for adjuvant chemotherapy: trials and tribulations. *Ann Oncol* 2012;23(Suppl. 10):x211-8.
- [42] Hornberger J, Alvarado MD, Rebecca C, Gutierrez HR, Yu TM, Gradishar WJ. Clinical validity/utility, change in practice patterns, and economic implications of risk stratifiers to predict outcomes for early-stage breast cancer: a systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1068-79.
- [43] Febbo PG, Ladanyi M, Aldape KD, De Marzo AM, Hammond ME, Hayes DF, et al. NCCN Task Force report: evaluating the clinical utility of tumor markers in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2011;9(Suppl. 5):S1-32.
- [44] Mamounas EP, Tang G, Fisher B, Paik S, Shak S, Costantino JP, et al. Association between the 21-gene recurrence score assay and risk of locoregional recurrence in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer: results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *J Clin Oncol* 2010;28:1677-83.
- [45] Albain KS, Barlow WE, Shak S, Hortobagyi GN, Livingston RB, Yeh IT, et al. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11:55-65.
- [46] Yorozyua K, Takeuchi T, Yoshida M, Mouri Y, Kousaka J, Fujii K, et al. Evaluation of Oncotype DX Recurrence Score as a prognostic factor in Japanese women with estrogen receptor-positive, node-negative primary Stage I or IIA breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:939-44.
- [47] Paik S, Tang G, Shak S, Kim C, Baker J, Kim W, et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:3726-34.
- [48] Kaufmann M, Pusztai L, Biedenkopf Expert PM. Use of standard markers and incorporation of molecular markers into breast cancer therapy: consensus recommendations from an International Expert Panel. *Cancer* 2011;117:1575-82.
- [49] Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group. Recommendations from the EGAPP Working Group: can tumor gene expression profiling improve outcomes in patients with breast cancer? *Gen Med* 2009;11:66-73.
- [50] Akashi-Tanaka S, Shimizu C, Ando M, Shibata T, Katsumata N, Kouno T, et al. 21-Gene expression profile assay on core needle biopsies predicts responses to neoadjuvant endocrine therapy in breast cancer patients. *Breast* 2009;18:171-4.
- [51] Dabbs DJ, Klein ME, Mohsin SK, Tubbs RR, Shuai Y, Bhargava R. High false-negative rate of HER2 quantitative reverse transcription polymerase chain reaction of the Oncotype DX test: an independent quality assurance study. *J Clin Oncol* 2011;29:4279-85.
- [52] Baehner FL, Achacoso N, Maddala T, Shak S, Quesenberry CP Jr, Goldstein LC, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 assessment in a case-control study: comparison of fluorescence in situ hybridization and quantitative reverse transcription polymerase chain reaction performed by central laboratories. *J Clin Oncol* 2010;28:4300-6.

- [53] O'Connor SM, Beriwal S, Dabbs DJ, Bhargava R. Concordance between semiquantitative immunohistochemical assay and oncotype DX RT-PCR assay for estrogen and progesterone receptors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:268-72.
- [54] Sun B, Zhang F, Wu SK, Guo X, Zhang LL, Jiang ZF, et al. Gene expression profiling for breast cancer prognosis in Chinese populations. *Breast* 2011;17:172-9.
- [55] Flanagan MB, Dabbs DJ, Brufsky AM, Beriwal S, Bhargava R. Histopathologic variables predict Oncotype DX recurrence score. *Mod Pathol* 2009;21:1253-61.
- [56] Gwin K, Pinto M, Tavassoli FA. Complementary value of the Ki-67 proliferation index to the oncotype DX recurrence score. *Int J Surg Pathol* 2009;17:303-10.
- [57] Auerbach J, Kim M, Fineberg S. Can features evaluated in the routine pathologic assessment of lymph node-negative estrogen receptor-positive stage I or II invasive breast cancer be used to predict the Oncotype DX recurrence score? *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:1697-701.
- [58] Kelly CM, Krishnamurthy S, Bianchini G, Litton JK, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, et al. Utility of oncotype DX risk estimates in clinically intermediate risk hormone receptor-positive, HER2-normal, grade II, lymph node-negative breast cancers. *Cancer* 2010;116:5161-7.
- [59] Sahebjam S, Aloyz R, Pilavdzic D, Brisson ML, Ferrario C, Bouganim N, et al. Ki 67 is a major, but not the sole determinant of Oncotype Dx recurrence score. *Br J Cancer* 2011;105:1342-5.
- [60] Tang P, Wang J, Hicks DG, Wang X, Schiffhauer L, McMahon L, et al. A lower Allred score for progesterone receptor is strongly associated with a higher recurrence score of 21-gene assay in breast cancer. *Cancer Invest* 2010;28:978-82.
- [61] Williams DJ, Cohen C, Darrow M, Page AJ, Chastain B, Adams AL. Proliferation (Ki-67 and phosphohistone H3) and oncotype DX recurrence score in estrogen receptor-positive breast cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2011;19:431-6.
- [62] Cuzick J, Dowsett M, Pineda S, Wale C, Salter J, Quinn E, et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:4273-8.
- [63] Cronin M, Sangli C, Liu ML, Pho M, Dutta D, Nguyen A, et al. Analytical validation of the Oncotype DX genomic diagnostic test for recurrence prognosis and therapeutic response prediction in node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Chem* 2007;53:1084-91.
- [64] Espinosa E, Sanchez-Navarro I, Gamez-Pozo A, Marín AP, Hardisson D, Madero R, et al. Comparison of prognostic gene profiles using qRT-PCR in paraffin samples: a retrospective study in patients with early breast cancer. *PLoS ONE* 2009;4:e5911 [Electronic Resource].
- [65] Kao KJ, Chang KM, Hsu HC, Huang AT. Correlation of microarray-based breast cancer molecular subtypes and clinical outcomes: implications for treatment optimization. *BMC Cancer* 2011;11:143:2011.
- [66] Van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 2002;415:530-6.
- [67] van de Vijver MJ, He YD, Van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1999-2009.
- [68] Buysse M, Loi S, van't Veer L, Viale G, Delorenzi M, Glas AM, et al. Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:1183-92.
- [69] Bueno-de-Mesquita JM, Linn SC, Keijzer R, Wesseling J, Nuyten DS, van Krimpen C, et al. Validation of 70-gene prognosis signature in node-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2009;117:483-95.
- [70] Knauer M, Cardoso F, Wesseling J, Bedard PL, Linn SC, Rutgers EJ, et al. Identification of a low-risk subgroup of HER-2-positive breast cancer by the 70-gene prognosis signature. *Br J Cancer* 2010;103:1788-93.
- [71] Bueno-de-Mesquita JM, Sonke GS, van de Vijver MJ, Linn SC. Additional value and potential use of the 70-gene prognosis signature in node-negative breast cancer in daily clinical practice. *Ann Oncol* 2011;22:2021-30.
- [72] Kunz G. Use of a genomic test (MammaPrint™) in daily clinical practice to assist in risk stratification of young breast cancer patients. *Arch Gynecol Obstet* 2011;283:597-602.
- [73] Mook S, Schmidt MK, Viale G, Pruneri G, Eekhout I, Floore A, et al. The 70-gene prognosis-signature predicts disease outcome in breast cancer patients with 1-3 positive lymph nodes in an independent validation study. *Breast Cancer Res Treat* 2009;116:295-302.
- [74] Mook S, Knauer M, Bueno-de-Mesquita JM, Retel VP, Wesseling J, Linn SC, et al. Metastatic potential of T1 breast cancer can be predicted by the 70-gene MammaPrint signature. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1406-13.
- [75] Mook S, Schmidt MK, Weigelt B, Kreike B, Eekhout I, van d V, et al. The 70-gene prognosis signature predicts early metastasis in breast cancer patients between 55 and 70 years of age. *Ann Oncol* 2010;21:717-22.
- [76] Knauer M, Mook S, Rutgers EJ, Bender RA, Hauptmann M, van d V, et al. The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;120:655-61.
- [77] Straver ME, Glas AM, Hannemann J, Wesseling J, van de Vijver MJ, Rutgers EJ, et al. The 70-gene signature as a response predictor for neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;119:551-8.
- [78] Mook S, Bonnefoi H, Pruneri G, Larsimont D, Jaskiewicz J, Sabadell MD, et al. Daily clinical practice of fresh tumour tissue freezing and gene expression profiling; logistics pilot study preceding the MINDACT trial. *Eur J Cancer* 2009;45:1201-8.
- [79] Bacchi CE, Prisco F, Carvalho FM, Ojopi EB, Saad ED. Potential economic impact of the 21-gene expression assay on the treatment of breast cancer in Brazil. *Rev Assoc Med Bras* 2010;56:186-91.
- [80] Chen E, Tong KB, Malin JL. Cost-effectiveness of 70-gene MammaPrint signature in node-negative breast cancer. *Am J Manag Care* 2010;16:e333-42.
- [81] Hall PS, McCabe C, Stein RC, Cameron D. Economic evaluation of genomic test-directed chemotherapy for early-stage lymph node-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:56-66.
- [82] Hornberger J, Cosler LE, Lyman GH. Economic analysis of targeting chemotherapy using a 21-gene RT-PCR assay in lymph-node-negative, estrogen-receptor-positive, early-stage breast cancer. *Am J Manag Care* 2005;11:313-24.
- [83] Hornberger J, Chien R, Krebs K, Hochheiser L. US insurance program's experience with a multigene assay for early-stage breast cancer. *Am J Manag Care* 2011;17:e194-202.
- [84] Klang SH, Hammerman A, Liebermann N, Efrat N, Doberne J, Hornberger J. Economic implications of 21-gene breast cancer risk assay from the perspective of an Israeli-managed health-care organization. *Value Health* 2010;13:381-7.
- [85] Kondo M, Hoshi SL, Ishiguro H, Yoshibayashi H, Toi M. Economic evaluation of 21-gene reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay in lymph-node-negative, estrogen-receptor-positive, early-stage breast cancer in Japan. *Breast Cancer Res Treat* 2008;112:175-87.
- [86] Kondo M, Hoshi SL, Yamanaka T, Ishiguro H, Toi M. Economic evaluation of the 21-gene signature (Oncotype DX) in lymph node-negative/positive, hormone receptor-positive early-stage breast cancer based on Japanese validation study (JBCRG-TR03). *Breast Cancer Res Treat* 2011;127:739-49.
- [87] Kondo M, Hoshi SL, Ishiguro H, Toi M. Economic evaluation of the 70-gene prognosis-signature (MammaPrint®) in hormone receptor-positive, lymph node-negative, human epidermal growth factor receptor type 2-negative early stage breast cancer in Japan. *Breast Cancer Res Treat* 2012;133:759-68.

- [88] Lamond NW, Skedgel C, Rayson D, Lethbridge L, Younis T. Cost-utility of the 21-gene recurrence score assay in node-negative and node-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;133:1115-23.
- [89] Lyman GH, Cosler LE, Kuderer NM, Hornberger J. Impact of a 21-gene RT-PCR assay on treatment decisions in early-stage breast cancer: an economic analysis based on prognostic and predictive validation studies. *Cancer* 2007;109:1011-8.
- [90] Oestreicher N, Ramsey SD, Linden HM, McCune JS, Van't Veer LJ, Burke W, et al. Gene expression profiling and breast cancer care: what are the potential benefits and policy implications? *Gen Med* 2005;7:380-9.
- [91] Retel VP, Joore MA, Knauer M, Linn SC, Hauptmann M, Harten WH. Cost-effectiveness of the 70-gene signature versus St. Gallen guidelines and Adjuvant Online for early breast cancer. *Eur J Cancer* 2010;46:1382-91.
- [92] Retel VP, Joore MA, van Harten WH. Head-to-head comparison of the 70-gene signature versus the 21-gene assay: cost-effectiveness and the effect of compliance. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131:627-36.
- [93] Tsoi DT, Inoue M, Kelly CM, Verma S, Pritchard KI. Cost-effectiveness analysis of recurrence score-guided treatment using a 21-gene assay in early breast cancer. *Oncologist* 2010;15:457-65.
- [94] Vanderlaan BF, Broder MS, Chang EY, Oratz R, Bentley TG. Cost-effectiveness of 21-gene assay in node-positive, early-stage breast cancer. *Am J Manag Care* 2011;17:455-64.
- [95] Vataire AL, Laas E, Aballea S, Gligorov J, Rouzier R, Chereau E. [Cost-effectiveness of a chemotherapy predictive test] Analyse coût-efficacité d'un test prédictif de la chimiothérapie dans le cancer du sein (Oncotype DX[®]) en France. *Bull Cancer* 2012;99:907-14.
- [96] Yang M, Rajan S, Issa AM. Cost effectiveness of gene expression profiling for early stage breast cancer: a decision-analytic model. *Cancer* 2012;118:5163-70.
- [97] Ward S, Scope A, Rafia R, Pandor A, Harnan S, Evans P. Gene expression profiling and expanded immunohistochemistry tests to guide the use of adjuvant chemotherapy in breast cancer management. ScHARR University of Sheffield; 2011 [online] Available: URL: <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/13283/57998/57998.pdf>.