



HAL
open science

Biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de points de contrôle immuns

Alexandra Frelau, Marc Pracht, Samuel Le Sourd, Alexandra Lespagnol, Romain Corre, Cedric Menard, Karin Tarte, Jean Mosser, Julien Edeline

► **To cite this version:**

Alexandra Frelau, Marc Pracht, Samuel Le Sourd, Alexandra Lespagnol, Romain Corre, et al.. Biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de points de contrôle immuns. *Bulletin du Cancer*, 2018, 10.1016/j.bulcan.2017.10.031 . hal-01815717

HAL Id: hal-01815717

<https://hal.science/hal-01815717v1>

Submitted on 19 Jun 2018

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.

Biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de points de contrôle immuns

Predictive biomarkers of response to immune checkpoint inhibitors

Alexandra Frelau^{1*}, Marc Pracht¹, Samuel Le Sourd¹, Alexandra Lespagnol², Romain Corre³, Cédric Ménard⁴, Karin Tarte⁴, Jean Mosser^{2,5}, Julien Edeline^{1,6}

¹*Oncologie médicale - CLCC Eugène Marquis UNICANCER Avenue de la Bataille Flandres-Dunkerque, 35042 Rennes Cedex*

²*Laboratoire de génétique somatique des cancers CHU Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux
35033 Rennes cedex 9*

³*Service de pneumologie CHU Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux
35033 Rennes cedex 9*

⁴*Laboratoire d'immunologie, thérapie cellulaire et hématopoïèse INSERM U197 CHU Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux
35033 Rennes cedex 9*

⁵*Institut de génétique et développement IGRD UMR 6290 CNRS – UR1 CHU Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux 35033
Rennes cedex 9*

⁶*Unité de recherche Foie, métabolisme et cancer – UMR991 – CHU Rennes, 2 rue Henri Le Guilloux
35033 Rennes cedex 9*

*** Correspondance :**

Alexandra Frelau, Oncologie médicale - CLCC Eugène Marquis UNICANCER Avenue de la Bataille Flandres-Dunkerque, 35042 Rennes Cedex, France. Tel.02.99.25.31.96 – a.frelau@rennes.unicancer.fr

Résumé :

1
2 Les anti-PD-1 s'imposent dernièrement comme un traitement de référence dans de
3 nombreux cancers métastatiques. Ils présentent l'avantage d'une efficacité
4 significative doublée d'un profil de toxicité favorable en monothérapie. Les taux et
5 durées de réponse sont toutefois très variables, ce qui implique, vu leur coût,
6 d'identifier des biomarqueurs prédictifs de réponse. Dans cette revue de la
7 littérature, nous nous intéressons aux biomarqueurs de réponse des
8 immunothérapies anti-PD1 et anti-CTLA-4. L'expression de PD-L1 par les cellules
9 tumorales et du micro-environnement évaluée par immunohistochimie est
10 prédictive de réponse pour certains cancers mais reste une approche mal
11 standardisée avec différents anticorps, différents seuils de positivité et différentes
12 cibles (tumeur ou micro-environnement). Il s'agit aussi d'une expression dynamique
13 au cours du temps et hétérogène donc souvent discordante entre biopsies et pièces
14 opératoires. Les lymphocytes circulants pourraient représenter un biomarqueur
15 prédictif notamment via la mesure du ratio polynucléaire neutrophile sur
16 lymphocytes (NLR), ratio simple à réaliser en pratique courante. Un taux de
17 néoantigènes élevé serait également associé à une réponse plus importante ce qui
18 expliquerait les taux de réponses particulièrement élevés des tumeurs avec
19 instabilité micro-satellitaire. Des signatures génomiques pourraient également
20 prédire la sensibilité aux anti-PD1. Par ailleurs, la présence de certaines bactéries de
21 la flore intestinale favoriserait la réponse immunitaire antitumorale même si le
22 mécanisme demeure mal compris. Enfin, des signatures d'expression de cytokines,
23 médiatrices de la réponse immune, pourraient constituer des biomarqueurs
24 pertinents. Plusieurs biomarqueurs de réponse potentiels semblent donc
25 intéressants mais aucun n'est encore prospectivement validé à ce jour.

26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45 **Mots-clés :** Immunothérapie, anti-PD1, biomarqueurs, expression de PD-L1,
46
47
48
49
50

Abstract:

51
52
53
54 PD-1 checkpoint inhibitors are becoming the reference treatment for several type of
55 cancers. Many patients show remarkable efficacy and low toxicity. However, some
56 patients have a better outcome than others with PD-1 checkpoint inhibitors. So, it is
57 crucial to identify biomarkers of response. We review here the available data of
58 several potential biomarkers of efficacy. The expression of PD-L1, detected by
59
60
61
62
63
64
65

1 immunohistochemistry on tumor cells and immune cells is a good predictive
2 biomarker of response for some cancers; however, this method is not standardized,
3 and there are different antibodies, different cut-off values, and different targets
4 (tumor or microenvironment). Moreover, the expression of PD-L1 is dynamic and
5 heterogeneous within the tumor: expression is discordant between primary tumor
6 and metastasis or between biopsy and surgical specimen. Peripheral blood
7 lymphocytes also can be informative, especially the baseline neutrophil to
8 lymphocyte ratio which is easy to measure in daily practice. High rate of neoantigens
9 is also associated with improved response. Therefore, mutation burden can be
10 predictive of response and this explains why tumors with microsatellites instability
11 have an enhanced response. Similarly, genetic signatures are linked with resistance
12 or response to treatment. Gut microbiota is associated with improved antitumor
13 immune response although the underlying mechanism is not well understood so far.
14 Lastly, it seems that cytokines, mediators of immunity may play a role in the
15 response to immunotherapy and so, constitute an interesting biomarker. Several
16 potential biomarkers are identified but none is prospectively validated so far.

17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27 **Keywords:** PD-1 blockades, immunotherapy, biomarkers, PD-L1 expression
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Introduction

1
2 Plusieurs études récentes ont montré l'intérêt de l'immunothérapie par anti-PD1
3 dans le traitement de nombreux cancers métastatiques. Les anti-PD1 deviennent
4 ainsi un traitement de choix dans le mélanome métastatique, les cancers broncho-
5 pulmonaires, le cancer du rein et les lymphomes d'Hodgkin en rechute ou
6 réfractaires. Les anti-PD1 sont des anticorps monoclonaux se fixant au récepteur PD-
7 L1. Les lymphocytes T antitumoraux expriment à leur surface le récepteur PD-1 qui
8 se lie au ligand PD-L1 exprimé par les cellules tumorales ou par les cellules
9 immunosuppressives du micro-environnement tumoral. Cette liaison,
10 habituellement utilisée par l'organisme pour réguler l'homéostasie immunitaire,
11 entraîne l'inactivation des lymphocytes antitumoraux et l'échappement des cellules
12 tumorales à la vigilance de l'immunité cellulaire. Les anti-PD1 vont contrer cette
13 réaction en levant l'inhibition des lymphocytes antitumoraux. Les anti-CTLA-4
14 fonctionnent sur le même principe mais ciblent la réaction immunologique véhiculée
15 par les cellules présentatrices d'antigènes se déroulant au sein du ganglion
16 lymphatique et non sur le site tumoral. En effet, lors de l'initiation de la réponse
17 immunitaire, au niveau des ganglions lymphatiques, les antigènes sont présentés aux
18 lymphocytes T CD8 par les cellules dendritiques grâce au CMH-I, et aux lymphocytes
19 T CD4 grâce au CMH-II. L'antigène est reconnu par le TCR exprimé par le lymphocyte
20 T. Cette liaison entraîne l'expression de B7 par la cellule dendritique, qui se lie au
21 récepteur CD28 exprimé par le lymphocyte T. Cette liaison permet de stimuler la
22 prolifération lymphocytaire T, et la transformation des lymphocytes T naïfs en
23 lymphocytes T actifs. Le récepteur CTLA-4, exprimé par les lymphocytes T, se lie avec
24 une forte affinité au récepteur B7 de la cellule dendritique ce qui entraîne un
25 rétrocontrôle négatif au niveau de l'activation lymphocytaire T. Les anti-CTLA-4
26 affectent donc la phase d'initiation (phase de « *priming* ») et d'activation des
27 lymphocytes T. Les anti-PD1 interviennent durant la phase effectrice de l'immunité
28 cellulaire. Le PD-1 est exprimé plus tardivement par les lymphocytes T et se lie aux
29 ligands PD-L1 et PD-L2, exprimés par les cellules tumorales et les cellules
30 présentatrices d'antigènes. Les anti-PD1 ciblent donc la réaction immunitaire ayant
31 lieu dans les tissus périphériques. Ils empêchent la liaison du PD-1 exprimé par le
32 lymphocyte T antitumoral au ligand PD-L1 (ou PD-L2) exprimé par la cellule tumorale
33 et par les cellules immunosuppressives du micro-environnement tumoral [1,2].
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56

57
58 Les profils de réponse à ces immunothérapies sont variés, de l'absence de réponse à
59 la réponse complète. Nous avons dans cet article résumé la littérature disponible
60
61
62
63
64
65

pour différents biomarqueurs potentiels de réponse. Identifier de tels marqueurs pourrait permettre de sélectionner les patients les plus à même de tirer bénéfice de ces traitements et d'en optimiser ainsi les coûts.

L'expression de PD-1/PD-L1

Le ligand PD-L1 est exprimé à la surface des cellules tumorales et de plusieurs cellules immunitaires présentes dans le micro-environnement tumoral : certains lymphocytes B et T, les macrophages et les cellules dendritiques. Cette expression est en partie induite par l'Interféron gamma (IFN gamma). Il est également présent à la surface des cellules vasculaires endothéliales et des cellules des îlots de Langerhans. PD-L2 est l'autre ligand de PD-1, et est présent à la surface des macrophages et des cellules dendritiques, et dans une moindre mesure que PD-L1 à la surface des cellules tumorales. PD-L2, ayant une expression plus restreinte, est impliqué dans l'activation et la polarisation des lymphocytes T, tandis que PD-L1 permet de limiter les réactions d'auto-immunité et d'inflammation locale [3–5].

Le pourcentage d'expression de PD-L1 à la surface des cellules est déterminé par immunohistochimie grâce à des anticorps variés. KEYNOTE 001 [6], étude de phase I évaluant le PEMBROLIZUMAB dans le cancer broncho-pulmonaire a utilisé un anticorps de DAKO, le clone 22C3. Elle a montré qu'une expression de PD-L1 d'au moins 50 % des cellules tumorales était prédictive de réponse. Pour les patients atteignant ce seuil, la médiane de survie sans progression (mPFS) était de 6,2 mois contre 3,2 mois chez les patients avec une moindre expression, et la médiane de survie globale (mOS) n'était pas atteinte, contre 12,5 mois. De même, les résultats de CheckMate 067 [7] dans les mélanomes avancés, confrontant les traitements par NIVOLUMAB seul, IPILIMUMAB seul et par l'association IPILIMUMAB et NIVOLUMAB étaient en faveur d'un intérêt prédictif de l'expression de PD-L1. L'anticorps utilisé était le clone 28-8 de DAKO avec un seuil de positivité à 5 % de marquage des cellules tumorales. Pour les patients, dont au moins 5 % des cellules tumorales exprimaient PD-L1, le NIVOLUMAB seul était aussi efficace que l'association NIVOLUMAB et IPILIMUMAB avec une PFS identique à 14 mois. Pour les patients n'atteignant pas ce seuil, le NIVOLUMAB seul était moins efficace avec une PFS de 5,3 mois contre 11,2 mois pour l'association des deux traitements. Contrairement aux deux études précédentes, CheckMate 025 [8], comparant le NIVOLUMAB à l'EVEROLIMUS dans le cancer du rein avancé a montré une amélioration de la survie

1 globale avec l'anti-PD1 sans retrouver de différence entre les patients PD-L1 positifs
2 et négatifs. Le seuil retenu était un marquage d'1 % des cellules tumorales par le
3 clone 28-8. De même CheckMate 032 [9], étude de phase 1-2, considérant
4 l'association NIVOLUMAB et IPILIMUMAB versus NIVOLUMAB seul dans le cancer
5 broncho-pulmonaire à petites cellules, a montré un bénéfice de survie pour la
6 combinaison, indépendant du statut PD-L1, avec des réponses significatives chez des
7 patients PD-L1 négatifs. L'expression de PD-L1 reste assez faible dans ce type de
8 tumeurs, et plus de 75 % des cancers de cette étude avaient un taux d'expression
9 inférieur à 1 %.

10 L'intérêt prédictif de l'expression de PD-L1 n'est donc pas reproductible d'un type
11 tumoral à l'autre. Par ailleurs, différents anticorps sont utilisés avec différents seuils
12 de positivité. Le tableau 1 recense les études de phase III concernant le NIVOLUMAB
13 et le PEMBROLIZUMAB, le tableau 2 des études de phase I-II avec l'ATEZOLIZUMAB
14 et le DURVALUMAB (anti-PD-L1). Ils illustrent le manque de standardisation dans la
15 méthode utilisée : quatre anticorps sont retenus pour l'immunohistochimie (clones
16 22C3 et 28-8 de DAKO, SP 142 et SP 263 de VENTANA). Les seuils et le type de
17 cellules cibles sont également multiples, de 1, 5, 10 et jusqu'à 50 % des cellules
18 tumorales ou des cellules du micro-environnement.

19 Une méta-analyse récente [22], rassemblant vingt essais de phases I, II et III a
20 montré que l'expression de PD-L1 était corrélée à la réponse dans le mélanome
21 métastatique où le taux de réponse objective poolée (ORR) était de 45 % pour les
22 patients PD-L1 positifs versus 27 % et dans le carcinome épidermoïde pulmonaire où
23 l'ORR était de 29 % versus 11 %. Il n'y avait pas, au contraire, de différence
24 significative selon le statut PD-L1 dans le cancer du rein et l'adénocarcinome
25 pulmonaire. Dans tous les cas, dans ces études, la seule expression de PD-L1 ne
26 permettait pas d'identifier de patients sans aucune chance de réponse aux anti-PD-
27 1.

28 Ces résultats sont à nuancer par le fait que nous n'avons pas d'informations claires
29 dans cet article, sur l'origine des échantillons tumoraux : dans les différentes études,
30 l'analyse de PD-L1 a pu être effectuée sur la biopsie initiale ou sur une biopsie après
31 au moins une ligne de traitement systémique (dans CheckMate 067, CheckMate 057
32 et CheckMate 017, des prélèvements archivés ont pu être utilisés). Or l'expression de
33 PD-L1 est variable au cours du temps. En effet, il s'agit d'une expression dynamique,
34 amenée à se modifier en fonction des différents traitements administrés [23]. Il est
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 également démontré que la concentration de PD-L1 varie après traitement du
2 mélanome par anti-PD-L1 car les lymphocytes activés relarguent de l'IFN gamma qui
3 stimule l'expression de PD-L1 à la surface des cellules tumorales environnantes [24].
4 Certains patients PD-L1 négatifs sont devenus PD-L1 positifs après traitement par
5 anti-PD-L1. De la même manière, une biopsie ne reflète pas l'expression de PD-L1 de
6 toute la tumeur : il existe une hétérogénéité spatiale intra-tumorale mais également
7 inter-tumorale, entre tumeur principale et métastases. Une étude de 2015 [25] a mis
8 en évidence un taux de discordance de 48 % entre l'expression de PD-L1 sur les
9 biopsies et les pièces opératoires (74 % de tumeurs n'exprimaient pas PD-L1 contre
10 26 % des biopsies). Il peut donc paraître inapproprié de se contenter d'une seule
11 biopsie pour évaluer le statut PD-L1 d'un patient. Il est possible que les résultats de
12 certaines études, comprenant des échantillons tumoraux réalisés à des moments
13 différents, soient difficiles à interpréter.
14
15
16
17
18
19
20
21

22 Ces données sont toutefois contredites par une étude s'intéressant aux cancers
23 bronchiques, présentée récemment à l'ASCO [26], ne retrouvant pas de différence
24 majeure entre le statut PD-L1 des échantillons récents ou anciens d'un même
25 patient (concordance de 76 % quand la différence d'âge des échantillons est
26 inférieure à 3 ans), ni de différence d'expression entre la tumeur primaire et la
27 métastase (concordance de 88,6 %). Le clone SP 263 de Ventana a été utilisé pour un
28 *cut-off* de 25 % d'expression sur les cellules tumorales.
29
30
31
32
33
34
35

36 Ainsi, l'expression de PD-L1 pourrait prédire la réponse aux anti-PD1 dans certains
37 types de cancers tels que les cancers pulmonaires et les mélanomes. Cet intérêt
38 prédictif est à nuancer par le manque de standardisation de la méthode utilisant
39 différents anticorps et seuils de positivité, par l'expression probablement hétérogène
40 et dynamique de ce récepteur au cours du temps et au sein même des lésions
41 tumorales.
42
43
44
45
46

47 Concernant la standardisation de la méthode, une étude présentée à l'ASCO [27] en
48 2016, comparant différents niveaux de positivité de PD-L1 obtenus sur des biopsies
49 de 15 cancers pulmonaires par 4 anticorps différents (clones 28-8, 22C3, SP 142 et
50 SP 263) a rapporté une meilleure homogénéité sur les taux d'expression entre ces
51 anticorps lorsque l'analyse portait sur les cellules tumorales et non sur celles du
52 micro-environnement. Les résultats obtenus avec les différents anticorps ne
53 restaient cependant pas interchangeables. D'autres études seront nécessaires pour
54 valider prospectivement ces résultats, ainsi que pour déterminer le seuil de
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 positivité pour chaque anticorps. Une étude plus récente [28] a décrit une
2 importante corrélation entre les résultats obtenus par ces 4 clones dans le cancer
3 broncho-pulmonaire. Mais le clone SP263 identifiait plus de cas positifs sur l'analyse
4 des cellules du micro-environnement que les autres clones. Des tests
5 supplémentaires seront nécessaires pour mieux comprendre ces différences de
6 résultats entre les anticorps.
7

8
9
10 Une autre méthode, alternative à l'immunohistochimie pourrait également se
11 développer pour déterminer le seuil d'expression de PD-L1: une étude [29] a utilisé
12 l'ATEZOLIZUMAB marqué au Cuivre-64 ($[^{64}\text{Cu}]$ atezolizumab) chez des souris
13 porteuses d'une tumeur exprimant PD-L1. Des images ont ensuite été réalisées au
14 TEP-Scanner, mettant en évidence que la distribution du traceur était corrélée à
15 l'expression de PD-L1. Cette méthode pourrait permettre d'évaluer l'expression de
16 PD-L1 de manière standardisée, et de mieux la suivre dans le temps et l'espace, sans
17 avoir recours à de multiples biopsies. Il sera nécessaire de confirmer l'intérêt de
18 cette méthode par des études ultérieures, notamment sur l'homme.
19

20
21 Si l'expression de PD-L1 peut être corrélée à la réponse aux anti-PD1, l'existence de
22 patients répondeurs chez les patients n'exprimant pas PD-L1 (valeur prédictive
23 négative insuffisante) limite à ce jour l'impact de ce marqueur dans la décision
24 thérapeutique.
25
26

27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 Le taux de lymphocytes et leucocytes

39
40
41 Plusieurs études [30,31] ont montré que des taux élevés de certains types de
42 lymphocytes étaient associés à une meilleure réponse. Un fort taux de lymphocytes
43 T CD8+ PD1+ sanguins avant traitement serait associé à une meilleure réponse à
44 l'immunothérapie. Une diminution des lymphocytes T PD1+ intra-tumoraux après
45 anti-PD1 serait quant à elle prédictive de réponse au traitement [31]. La détection de
46 lymphocytes TCD8+ dans l'environnement tumoral, cellule effectrice de l'immunité
47 antitumorale, est centrale dans la réponse aux inhibiteurs de *checkpoint*. La
48 présence d'infiltrats lymphocytaires péri-tumoraux avant traitement (TILS = *Tumor*
49 *Infiltrated Lymphocytes*) est liée à une augmentation de la réponse aux anti-PD1
50 [32,33]. Une étude [34] a mis en évidence une augmentation de l'infiltration
51 tumorale par les lymphocytes T après 2 cures de NIVOLUMAB chez la majorité des
52 patients (cancer du rein métastatique). Une prolifération des lymphocytes T
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 CD8+intra-tumoraux pendant le traitement par anti-PD1 serait directement corrélée
2 à l'efficacité antitumorale [33]. Ces différents résultats ont été confirmés par une
3 étude plus récente dans le mélanome métastatique sous anti-PD1 montrant que les
4 taux de lymphocytes T PD1+ intra-tumoraux et péri-tumoraux étaient 5 à 7 fois plus
5 importants avant traitement chez les patients répondeurs que chez les non
6 répondeurs et que le taux de lymphocytes T CD8+ augmentait de manière
7 significative chez les répondeurs après 2 mois de traitement [35].
8
9

10
11 Dans le mélanome métastatique sous IPILIMUMAB, la présence de lymphocytes T
12 CD8+ Ki67+ serait de pronostic favorable. La protéine Ki67 est un marqueur cellulaire
13 de prolifération et de division cellulaire. Les lymphocytes T Ki67+ sont donc des
14 lymphocytes en prolifération [36].
15
16
17
18
19

20 Un type particulier [37] de lymphocytes T CD4 ICOS+ (lymphocytes mémoires
21 activés), pourrait également être associé à une meilleure réponse tumorale. Sous
22 anti-CTLA-4, la liaison B7-CD28 permet l'activation des lymphocytes T avec
23 expression d'ICOS. Dans une étude sur 27 patients traités par IPILIMUMAB pour
24 mélanome métastatique, un fort taux de lymphocytes T CD4 ICOS+ circulants était
25 associé à une meilleure réponse. Une augmentation de ce taux après 7 semaines de
26 traitement serait prédictive de taux de réponse et de survie globale majorés. Un fort
27 taux de lymphocytes T CD3+CD4+ICOS+CD45RO+ était plus particulièrement associé
28 à une augmentation de la survie dans le mélanome métastatique sous IPILIMUMAB
29 [38]. ICOS pourrait également être utilisé comme un marqueur pharmacodynamique
30 de l'efficacité biologique de l'IPILIMUMAB : une augmentation significative du taux
31 de lymphocytes T CD4+ ICOS + a été détectée chez des patients avec un mélanome
32 métastatique ou un cancer de la vessie [39]. ICOS serait donc le témoin de l'activité
33 biologique de l'IPILIMUMAB qui vise à restaurer l'activation des lymphocytes T à la
34 phase précoce de l'immunité cellulaire.
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46

47 Chez des patients atteints de carcinome urothélial traités par ATEZOLIZUMAB, un
48 haut niveau d'infiltration lymphocytaire T péri-tumoral, ainsi qu'une forte clonalité
49 intra-tumorale puis une expansion sanguine des clones dominants étaient associés à
50 une meilleure survie [40]. L'ATEZOLIZUMAB permettrait donc la sélection de
51 quelques clones lymphocytaires spécifiques ensuite retrouvés dans le sang
52 périphérique. Une faible variabilité des lymphocytes circulants après traitement était
53 associée positivement à la survie. Une autre étude a confirmé ces résultats [41]. Un
54 répertoire varié de TCR avant traitement dans le sang périphérique favoriserait la
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 probabilité d'avoir un ou plusieurs clones antitumoraux. L'augmentation de clones
2 lymphocytaires spécifiques dans le sang périphérique après traitement montrerait
3 que les anti-PD-L1 ont permis la sélection de lymphocytes T péri tumoraux
4 spécifiques ensuite retrouvés dans le sang circulant. Il est prouvé que la liaison PD1-
5 PD-L1 exerce un rétrocontrôle négatif sur l'expression du TCR par les lymphocytes T
6 [42]. Cela entraîne une diminution de la prolifération et des activités cytotoxiques
7 des lymphocytes T [43]. L'inhibition de cette interaction (par l'ATEZOLIZUMAB)
8 pourrait donc expliquer l'augmentation de lymphocytes T antitumoraux, dont le TCR
9 reconnaît les antigènes tumoraux, passant ensuite dans le sang périphérique. De
10 même, une forte diversité du TCR avant traitement par IPILIMUMAB dans le
11 mélanome métastatique serait associée à un meilleur bénéfice clinique [44]. Une
12 diversification du répertoire TCR a été constatée après anti-CTLA-4 [45]. Il n'y aurait
13 pas d'expansion d'un clone dominant mais de plusieurs clones différents. Les anti-
14 CTLA-4 agissant sur la phase d'activation des lymphocytes ayant lieu dans le
15 ganglion, il y aurait une activation de différents clones lymphocytaires.

16 Une autre étude [46] concernant des patients porteurs de cancer de la prostate sous
17 IPILIMUMAB a montré de même qu'une augmentation du répertoire de lymphocytes
18 T après le début du traitement était liée à une augmentation de la réponse clinique
19 mais également de la toxicité.

20 Le ratio neutrophiles/lymphocytes [47] (NLR) pourrait lui aussi constituer un bio-
21 marqueur pronostique voire prédictif. Une étude rétrospective sur 187 patients,
22 traités par IPILIMUMAB pour mélanome métastatique a montré ainsi qu'un NLR
23 inférieur à cinq était associé à une augmentation de la survie globale (mOS de 8 mois
24 versus 2,6) et de la survie sans progression (mPFS de 3,6 mois versus 1,9). Ce ratio,
25 facile à utiliser en pratique, pourrait permettre d'appréhender précocement les
26 patients répondeurs au traitement : les patients ayant une augmentation du ratio
27 NLR en début de traitement sembleraient ainsi avoir une survie sans progression
28 plus courte [48]. Ces résultats ont été confirmés dans une étude plus récente [49]
29 montrant qu'un taux de lymphocytes supérieur à 1 000/mm³ et un taux de
30 neutrophiles inférieurs à 4 000/mm³ étaient associés à une meilleure OS, après la 1^{re}
31 et la 2^e injection de NIVOLUMAB (mélanome non résecable). Les taux avant
32 traitement n'étaient pas prédictifs de réponse.

33 Une étude rétrospective [50] concernant 73 patients traités par IPILIMUMAB pour
34 mélanome métastatique a montré qu'un taux de lymphocytes supérieur à 1 000 par
35

1 mm³ après la première injection de traitement était associé à une augmentation de
2 la mOS (11,1 mois versus 4,8 mois). De même, le taux d'éosinophiles a été étudié.
3 Une augmentation de ce taux de plus de 100 par mm³ entre la première et la
4 deuxième injection était liée à une augmentation de la mOS (11,3 mois versus 6,8
5 mois). Ces résultats sont concordants avec ceux d'une étude récente [51] montrant
6 une augmentation du taux de réponse (35 % versus 15 %) chez les patients ayant
7 une augmentation du taux d'éosinophiles de plus de 100/mm³ entre la 2e et la 4e
8 injection.
9

10
11
12
13 Les taux intra tumoraux ou circulants de certains sous types leucocytaires pourraient
14 donc précocement apprécier la réponse, en particulier le ratio neutrophile sur
15 lymphocytes qui est simple et peu coûteux à réaliser en routine. Il manque
16 cependant aussi pour ces paramètres des données prospectives de validation
17 définitive.
18
19
20
21
22

23 Charge mutationnelle et taux de néo antigènes

24
25
26 Les mutations de l'ADN des cellules tumorales génèrent des peptides oncogéniques à
27 l'origine d'antigènes de surface, reconnus comme étrangers au soi par le système
28 immunitaire, appelés néo antigènes. Ces néo antigènes sont eux-mêmes à l'origine
29 de l'activation et de la prolifération de lymphocytes T antitumoraux. Les anti-PD1 et
30 les anti-CTLA-4 visant à empêcher l'inactivation de ces lymphocytes cytotoxiques, le
31 taux de néo antigènes pourrait être prédictif de la réponse à ces immunothérapies.
32 Une étude concernant 45 patients porteurs d'un cancer métastatique avec ou sans
33 défaut du système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR =
34 *MisMatchRepair*) [52] a retrouvé un taux de réponse de 40 % chez les patients avec
35 MMR déficient contre un taux de réponse de 0 % chez ceux dont le système de
36 réparation de l'ADN n'était pas altéré. Cette déficience du système MMR est à
37 l'origine de très nombreuses mutations donc d'un grand nombre de néo antigènes. Il
38 concerne 15 % des cancers colorectaux sporadiques mais 100 % des patients
39 porteurs de syndromes de Lynch.
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53

54
55 Une étude parue dans le NEJM en 2014 s'est intéressée à l'IPILIMUMAB dans les
56 mélanomes métastatiques et a déterminé une « signature antigénique » associée à
57 une meilleure réponse dans une cohorte-test. Cette signature a été validée dans une
58 cohorte de validation de 39 patients avec une différence de survie globale en faveur
59
60
61
62
63
64
65

1 des patients présentant cette signature [53]. Celle-ci contenait entre autres des
2 antigènes semblables à ceux des virus et bactéries commensaux dont les antigènes
3 sont donc fréquemment pris en charge par les lymphocytes.
4

5 Une seconde étude concernant la charge mutationnelle, parue dans Science en
6 2015, a établi un seuil à 178 mutations au-delà duquel un bénéfice durable du
7 PEMBROLIZUMAB était observé parmi les patients porteurs d'un cancer broncho-
8 pulmonaire. Ce seuil a été validé dans un groupe contrôle (mPFS de 14,5 mois contre
9 3,5 mois) [54]. Parmi ces mutations, se trouvaient celles de gènes impliqués dans la
10 réplication et la réparation de l'ADN, comme POLD1, POLE, MSH2. Un fort taux de
11 transversions (remplacement d'une purine par une pyrimidine ou inversement),
12 correspondant à la signature moléculaire des patients fumeurs a également été
13 retrouvé et était l'origine d'un plus grand nombre de néo antigènes.
14
15
16
17
18
19
20
21

22 Une association entre charge mutationnelle et infiltration lymphocytaire a été
23 démontrée [55]: un fort taux de mutations serait lié à une augmentation des
24 lymphocytes T CD4 et CD8+ activés péri-tumoraux. Une telle association a
25 également été trouvée entre défaut de réparation de l'ADN et charge mutationnelle
26 totale. Cela dit, seules les tumeurs avec défaut de réparation des mésappariements
27 de l'ADN présentaient une augmentation de l'infiltration lymphocytaire ce qui plaide
28 aussi pour faire du statut MMR un biomarqueur prédictif de réponse.
29
30
31
32
33
34

35 Le taux de néo antigènes et la charge mutationnelle semblent donc intéressants
36 pour prédire la réponse mais les méthodes de séquençage du génome s'avèrent à ce
37 jour encore complexes et coûteuses à réaliser en pratique. Par ailleurs, les tumeurs
38 avec instabilité micro-satellitaire, les plus à même de répondre, concernent une
39 faible proportion de patients.
40
41
42
43
44
45
46
47

48 Signatures d'expression génique et mutations

49
50

51 Certaines études via des méthodes de séquençage du génome, se sont intéressées à
52 l'impact prédictif de signatures géniques.
53
54
55

56 Une étude a décrit ainsi un type de tumeurs présentant une réponse immune innée
57 liée aux dommages à l'ADN [56]. Il existe dans ces tumeurs une surproduction de
58 cytokines augmentant l'infiltration lymphocytaire et une surexpression de PD-L1.
59 Une signature de 44 gènes, constituant un phénotype DDRD (*DNA Damage Response*)
60
61
62
63
64
65

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

Deficient), a été identifiée. Cette signature, constituant un test, a été appliquée à un ensemble de cancers colorectaux. Les résultats ont montré que 80 % des tumeurs MSI (microsatellites instables) et 25 % des tumeurs MSS (microsatellites stables) présentaient cette signature (et ont donc un test positif). Ce test détecterait de fait les patients porteurs de tumeurs déficientes pour la réparation de l'ADN et permettrait d'identifier les patients répondeurs aux anti-PD-1. Cette signature pourrait de surcroît permettre d'identifier les rares patients MSS répondeurs.

Une autre étude a évalué des signatures contenant des gènes liés à la réponse immune et associés à un meilleur taux de réponse aux anti-PD-1 dans différents types de cancers [57]. Parmi ces signatures, 15 étaient constituées par des gènes codant pour la réponse des lymphocytes T cytotoxiques. Ces résultats ont été appuyés par une étude montrant un lien entre stabilité tumorale et survie sans progression avec une signature de 6 gènes codant en majeure partie pour l'activation d'effecteurs cellulaires du système immunitaire (Lymphocytes T, NK, T régulateurs...) [58].

Un article récent [59] a montré un lien entre charge mutationnelle élevée et amélioration de la survie globale et, dans une moindre mesure, de la réponse à l'immunothérapie. Il existait parmi les patients répondeurs et non répondeurs des patients avec une faible et forte charge mutationnelle. Certains patients répondeurs avec un plus faible taux de mutations avaient une meilleure survie que les patients non répondeurs avec un fort taux de mutations, ce qui laisserait supposer que des gènes spécifiques influencent la réponse. Une mutation du gène BRCA2 a été ainsi fréquemment retrouvée parmi les patients répondeurs. Il a également été mis en évidence une signature transcriptionnelle spécifique de résistance innée aux anti-PD-1 (IPRES pour Innate anti-PD-1 Resistance). Cette signature montrait une surexpression de certains gènes parmi lesquels des gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse, l'angiogenèse, le remodelage de la matrice extra-cellulaire, l'adhésion cellulaire ou la cicatrisation (AXL, ROR2, WTN5A, LOXL2,...). Certains gènes pourraient donc influencer favorablement ou défavorablement la réponse à l'immunothérapie. Dans une étude [60] concernant des mélanomes traités par anti-CTLA-4, les mutations de deux gènes, SERPINB3 et SERPINB4 étaient liées à la réponse aux anti-CTLA-4 et à la survie globale. Ces deux gènes codent pour des inhibiteurs de protéase ayant un rôle dans l'apoptose et dans l'auto-immunité. Leur mutation n'avait cependant pas d'influence sur la survie des patients qui n'étaient pas traités par immunothérapie. À l'inverse, un autre travail

1 récent a montré l'impact prédictif de non-réponse de certaines mutations du gène
2 de la beta-2-microglobuline et des gènes JAK1 et 2, respectivement impliqués dans
3 l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et dans la réponse à
4 l'interféron gamma [61].
5

6
7 Ainsi certaines mutations et signatures génétiques spécifiques pourraient s'avérer
8 utiles pour distinguer les répondeurs des non-répondeurs. Ces résultats restent,
9 pour le moment, à valider sur de plus grandes cohortes mais auront probablement
10 un rôle majeur dans la personnalisation de l'immunothérapie.
11
12
13
14
15
16
17

18 Le microbiote

19
20
21 La flore intestinale rassemble plus de 100 000 milliards de bactéries vivant en accord
22 avec leur hôte, en favorisant le métabolisme et le rendement énergétique
23 alimentaire et en limitant l'invasion par des agents pathogènes. D'une manière
24 encore partiellement incomprise, l'exposition des lymphocytes à certains types de
25 bactéries de la flore commensale peut faire varier les réponses à l'immunothérapie
26 antitumorale [62]. Une étude parue dans *Science* [63] a analysé la croissance de
27 mélanomes sur un modèle murin comprenant deux types de souris : les souris JAX à
28 fort taux de lymphocytes intra-tumoraux d'un côté et souris TAC à plus faible taux de
29 l'autre. La croissance tumorale était beaucoup plus faible chez les souris JAX, du fait
30 de l'infiltration de la tumeur par les lymphocytes intra-tumoraux. L'immunothérapie
31 par anti-PDL-1 était également plus efficace chez les souris JAX. Le mélange de souris
32 ou la greffe de matières fécales de souris JAX conférait une résistance aux souris TAC,
33 suggérant un lien transmissible lié à la flore commensale. Une bactérie spécifique a
34 pu être identifiée : *Bifidobacterium*. Cette bactérie particulière confère à son hôte
35 une résistance innée aux tumeurs ainsi qu'une meilleure réponse aux
36 immunothérapies. Une deuxième étude parue dans *Science* [64] concernant
37 toujours un modèle murin porteur de mélanomes traités par anti-CTLA-4, a montré
38 que les souris répondaient moins bien à l'immunothérapie après destruction de leur
39 flore intestinale par une antibiothérapie à large spectre.
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53

54
55 Il existe donc un lien étroit entre réaction immunitaire antitumorale et microbiote
56 intestinal et donc un lien entre réponse à l'immunothérapie et ce même microbiote.
57 Le mécanisme reste pour le moment mal compris mais son élucidation pourrait
58 permettre de confirmer la valeur de ce potentiel biomarqueur prédictif. Il est
59
60
61
62
63
64
65

1 possible que l'existence de mimétismes moléculaires entre les motifs antigéniques
2 présents sur les bactéries commensales et les néo antigènes tumoraux puisse
3 expliquer une meilleure réponse immunitaire antitumorale selon l'exposition à
4 certaines bactéries [64]. Les antigènes présents à la surface des bactéries
5 intestinales pourraient prédisposer le système immunitaire à reconnaître certains
6 néo antigènes tumoraux similaires [65–67]. Lors de la réponse immunitaire
7 antitumorale dirigée contre les néo antigènes tumoraux, il pourrait exister une
8 réactivité croisée avec les antigènes bactériens ou viraux auxquels l'organisme a été
9 exposé [53].
10
11
12
13
14

15 La clarification de ces interactions pourrait même permettre de modifier la flore
16 commensale d'un individu pour améliorer sa réponse immunitaire antitumorale et
17 donc de favoriser sa réponse à l'immunothérapie.
18
19
20
21
22
23

24 Les cytokines

25 Les cytokines, groupe de protéines ayant un rôle de médiateur entre les différentes
26 cellules immunitaires, sont notamment produites par les cellules immunitaires, et
27 permettent la régulation des processus immuns en se fixant sur leurs récepteurs
28 spécifiques.
29
30
31
32
33
34
35

36 Il y a des cytokines activatrices comme l'IFN-gamma, les TNF (Tumor Necrosis
37 Factor)-alpha et bêta produites par les T cytotoxiques. Ces 3 cytokines contribuent à
38 la défense antitumorale par différents mécanismes. L'IFN-gamma, en association aux
39 TNF, a des propriétés cytotoxiques directes, inhibe la croissance tumorale, active les
40 macrophages, améliore l'expression des molécules du CMH, favorisant ainsi la
41 reconnaissance de l'antigène. Parmi les cytokines inhibitrices, le rôle du TGF
42 (*Transforming Growth Factor*)-bêta est à souligner. C'est une cytokine
43 polypeptidique, produite de manière ubiquitaire dans l'organisme. Elle a un rôle
44 complexe, avec une fonction immunosuppressive sur de nombreuses cellules de
45 l'immunité innée ou adaptative et est notamment produite par les lymphocytes T
46 CD4 régulateurs visant à modérer la réaction immune. Elle peut également prévenir
47 la carcinogénèse. Cette cytokine permet le maintien de l'homéostasie tissulaire,
48 régule la prolifération, la différenciation, l'adhésion et module le micro-
49 environnement cellulaire. Les cellules tumorales peuvent inactiver le récepteur du
50 TGF-bêta ou altérer les fonctions anti-tumorales de cette voie. Dans ce dernier cas, la
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

tumeur acquiert un fort potentiel de division et de progression [68].

Les cytokines ont un rôle clé dans l'immunité antitumorale et pourraient donc constituer un bio marqueur intéressant de réponse à l'immunothérapie.

Une étude [69] dernièrement présentée à l'ASCO, constatant que les lymphocytes activés relarguaient certaines cytokines (IFN-gamma, IL2-4-5-10, TNF-alpha et béta) favorisant l'afflux de cellules immunitaires sur le site tumoral et augmentant la reconnaissance des cellules tumorales par les cellules cytotoxiques, a décrit un test permettant de mesurer les taux de cytokines avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité. Ce test pourrait donc servir d'outil préférentiel pour la mesure de cytokines prédictives de réponse. Un essai de phase II[70], concernant le mélanome avancé sous IPILIMUMAB, a affirmé l'importance du micro-environnement tumoral dans la réponse à l'immunothérapie et a souligné le rôle de l'IDO (indol-amine 2,3-dioxygenase) dont l'expression était associée positivement au bénéfice clinique de l'IPILIMUMAB . L'IDO est une enzyme dégradant le tryptophane dans l'environnement tumoral et est exprimée par les cellules tumorales, dans les ganglions drainants, par le placenta, par plusieurs cellules du système immunitaire notamment les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules myéloïdes suppressives (MDSC) [71]. Elle entraîne une suppression des fonctions effectrices des lymphocytes T, bloque leur différenciation et induit leur apoptose [72]. Elle a donc une fonction immunosuppressive. Mais l'expression de cette enzyme est en particulier provoquée par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-1, l'IFN-gamma et le TNF- alpha qui témoignent d'une forte activation du système immunitaire. Il serait donc possible que l'IDO soit surexprimée chez les patients ayant une forte réponse immunitaire antitumorale, d'où une augmentation d'efficacité de l'immunothérapie chez ces patients [70]. Le dosage de certaines cytokines au cours des thérapies par anti-PD-1 pourrait ainsi être informatif quant à la réponse au traitement. Une autre étude [73], s'est intéressée au rôle du TGF-béta. Le TGF-béta est fréquemment surexprimé dans les cancers agressifs, corrélé à une augmentation des métastases, à un pronostic défavorable et à une résistance aux différents traitements. Certaines études précliniques ont montré que les antagonistes du TGF-béta permettaient d'augmenter l'efficacité des chimiothérapies et des immunothérapies. Mais le TGF-béta aurait également un rôle dans l'acquisition du phénotype EMT (Epithelial Mesenchymal Transition), permettant aux cellules tumorales d'acquérir un potentiel plus invasif. Or ce phénotype, caractérisé par une signature génétique particulière dans le cancer du poumon non à petites

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
cellules, serait associé à une surexpression de PD-L1. Cette catégorie de patients, ayant le phénotype EMT, pourrait donc bénéficier au mieux des anti-PD-1. Une étude récente [74] a mis en évidence une variation dans l'expression de PD-L1 au cours de la transition épithélio-mésenchymateuse dans le cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules. Le phénotype EMT a été induit avec un traitement par TGF-béta ou chimiothérapie. Une surexpression de PD-L1 a été constatée après induction par le TGF-béta. La chimiothérapie provoquait également une augmentation de la sécrétion de TGF-béta à l'origine d'une surexpression de PD-L1. L'expression de PD-L1 serait donc en partie régulée par le TGF-béta. Une association significative entre l'expression de PD-L1 et le phénotype EMT a également été retrouvée. Le TGF-béta aurait donc un rôle potentiellement modulateur de la réponse aux anti-PD1, mais son rôle dans la réaction immune étant complexe, il semble également difficile pour le moment de le considérer comme un biomarqueur de réponse.

24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
Ainsi les cytokines, intervenant dans l'activation ou l'inhibition de la réponse immunitaire antitumorale, ont probablement un impact dans la réponse aux immunothérapies, mais leurs actions sont complexes et des études complémentaires sont nécessaires pour déterminer lesquelles d'entre elles seraient les plus à même de prédire la réponse aux inhibiteurs de *checkpoint* immunitaires.

37 Conclusion

38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
Ces dernières années ont vu l'essor des immunothérapies anti-CTLA-4 et surtout, anti-PD-1. Ces thérapies permettent d'obtenir des réponses objectives durables mais seulement chez 20 à 30 % des patients. Identifier un biomarqueur de réponse fiable pourrait permettre de n'administrer ces traitements qu'aux seuls patients susceptibles d'en bénéficier durablement avec un intérêt en termes de stratégie thérapeutique mais également de coût de santé étant donné le prix élevé de ces traitements. Il n'existe pas à ce jour de biomarqueur parfaitement discriminant. Nous avons considéré dans cet article six biomarqueurs potentiels, illustrés par le schéma ci-dessous (figure 1). L'expression de PD-L1 en IHC pourrait être pertinente dans certaines conditions mais il sera pour cela indispensable de définir une méthode d'immunohistochimie standard et de fixer un seuil de positivité consensuel.

1 Le taux de lymphocytes, et plus particulièrement le ratio polynucléaires neutrophiles
2 sur lymphocytes pourrait permettre d'apprécier de manière précoce la réponse mais
3 ce marqueur nécessite une validation prospective.
4

5 La détermination du taux de néo antigènes est à ce jour difficile à réaliser en routine
6 mais ce paramètre est potentiellement très pertinent à visée prédictive, comme
7 l'illustre le cas des tumeurs avec déficience du système MMR. Certaines signatures
8 géniques spécifiques, et plus particulièrement la présence de certaines mutations
9 auraient également un impact majeur dans la réponse thérapeutique et pourraient
10 permettre une personnalisation de l'immunothérapie des cancers.
11
12
13
14
15

16 Le microbiote a une influence dans la réponse à l'immunothérapie qui reste mal
17 comprise à ce jour et qui doit donc être approfondie avant de pouvoir générer un
18 biomarqueur voire même de constituer une approche thérapeutique synergique aux
19 anti-PD-1.
20
21
22
23

24 Enfin, certaines cytokines, agents essentiels au bon déroulement de la réaction
25 immunitaire, favorisant ou inhibant la réponse anti tumorale, pourraient
26 théoriquement servir de biomarqueurs mais des études complémentaires seraient
27 nécessaires pour les identifier et valider leur valeur prédictive. Leur action sur la
28 réaction immune est par ailleurs complexe et donc leur rôle prédictif difficile à
29 apprécier...
30
31
32
33
34
35

36 La question d'un biomarqueur de réponse aux anti-PD-1 (et aux anti-CTLA-4) n'est
37 donc pas résolue et reste un enjeu majeur afin de pouvoir personnaliser et optimiser
38 le coût de ces traitements.
39
40
41
42
43
44
45

46 Remerciements:

47

48 Les auteurs souhaitent en particulier remercier Odile Audrain, documentaliste au
49 CLCC Eugène Marquis pour l'aide apportée à la rédaction de cet article et pour la
50 gestion de la bibliographie.
51
52
53
54
55
56
57

58 Déclaration de liens d'intérêts :

59
60
61
62
63
64
65

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts

Références

- [1] Sharma P, Wagner K, Wolchok JD, Allison JP. Novel cancer immunotherapy agents with survival benefit: recent successes and next steps. *Nat Rev Cancer* 2011;11:805–12.
- [2] Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol* 2016;39:98–106.
- [3] Guan J, Lim KS, Mekhail T, Chang C-C. Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression in the Programmed Death Receptor-1 (PD-1)/PD-L1 Blockade: A Key Player Against Various Cancers. *Arch Pathol Lab Med* 2017;141:851–61.
- [4] He J, Hu Y, Hu M, Li B. Development of PD-1/PD-L1 Pathway in Tumor Immune Microenvironment and Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer. *Sci Rep* 2015;5:13110.
- [5] Chen DS, Irving BA, Hodi FS. Molecular pathways: next-generation immunotherapy--inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2012;18:6580–7.
- [6] Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;372:2018–28.
- [7] Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med* 2015;373:23–34.
- [8] Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2015;373:1803–13.
- [9] Antonia SJ, López-Martin JA, Bendell J, Ott PA, Taylor M, Eder JP, et al. Nivolumab alone and nivolumab plus ipilimumab in recurrent small-cell lung cancer (CheckMate 032): a multicentre, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:883–95.
- [10] Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:375–84.
- [11] Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med* 2015;373:23–34.
- [12] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373:1627–39.
- [13] Robert C, Long GV, Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med* 2015;372:320–30.
- [14] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373:123–35.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- [15] Antonia SJ, López-Martin JA, Bendell J, Ott PA, Taylor M, Eder JP, et al. Nivolumab alone and nivolumab plus ipilimumab in recurrent small-cell lung cancer (CheckMate 032): a multicentre, open-label, phase 1/2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17:883–95.
- [16] Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 2015;372:2521–32.
- [17] Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl* 2016;387:1540–50.
- [18] Pembrolizumab (MK-3475) Versus Standard Treatment for Recurrent or Metastatic Head and Neck Cancer (MK-3475-040/KEYNOTE-040) - Full Text View - ClinicalTrials.gov n.d. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02252042> (accessed April 24, 2017).
- [19] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016;375:1823–33.
- [20] Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl* 2016;387:1837–46.
- [21] Hoffman-Censits JH, Grivas P, Van Der Heijden MS, Dreicer R, Loriot Y, Retz M, et al. IMvigor 210, a phase II trial of atezolizumab (MPDL3280A) in platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (mUC). *J Clin Oncol* 2016;34:355–355.
- [22] Gandini S, Massi D, Mandalà M. PD-L1 expression in cancer patients receiving anti PD-1/PD-L1 antibodies: A systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016;100:88–98.
- [23] Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science* 2015;348:56–61.
- [24] Powderly JD, Koeppen H, Hodi FS, Sosman JA, Gettinger SN, Desai R, et al. Biomarkers and associations with the clinical activity of PD-L1 blockade in a MPDL3280A study [abstract]. *J Clin Oncol* 2013;31:3001–3001.
- [25] Ilie M, Long-Mira E, Bence C, Butori C, Lassalle S, Bouhlel L, et al. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances: a potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2016;27:147–53.
- [26] Midha A, Sharpe A, Scott M, Walker J, Shi K, Ballas M, et al. PD-L1 expression in advanced NSCLC: Primary lesions versus metastatic sites and impact of sample age [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34(15):3025.
- [27] Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, Jöhrens K, Kirchner T, Reu S, et al. Diagnostic PD-L1 immunohistochemistry in NSCLC: Results of the first German harmonization study [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [28] Parra ER, Villalobos P, Mino B, Rodriguez-Canales J. Comparison of Different Antibody Clones for Immunohistochemistry Detection of Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) on Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017 Jul 17
- [29] Lesniak WG, Chatterjee S, Gabrielson M, Lisok A, Wharram B, Pomper MG, et al. PD-L1 Detection in Tumors Using [(64)Cu]Atezolizumab with PET. *Bioconj Chem* 2016;27:2103–10.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- [30] Dronca RS. Frequency of certain immune cells in blood may predict metastatic melanoma response to Pembrolizumab, New York: CRI-CIMT-EATI-AACR International Cancer Immunotherapy Conference; Sept. 16–19. Available : <http://www.aacr.org/Newsroom/Pages/News-Release-Detail.aspx?ItemID=759>
- [31] Ngiow SF, Young A, Jacquelot N, Yamazaki T, Enot D, Zitvogel L, et al. A Threshold Level of Intratumor CD8+ T-cell PD1 Expression Dictates Therapeutic Response to Anti-PD1. *Cancer Res* 2015;75:3800–11.
- [32] Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res* 2015;75:2139–45.
- [33] Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJM, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature* 2014;515:568–71.
- [34] Choueiri TK, Fishman MN, Escudier B, McDermott DF, Drake CG, Kluger H, et al. Immunomodulatory Activity of Nivolumab in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2016;22:5461–71.
- [35] Vilain RE, Menzies AM, Wilmott JS, Kakavand H, Madore J, Guminski A, et al. Dynamic Changes in PD-L1 Expression and Immune Infiltrates Early During Treatment Predict Response to PD-1 Blockade in Melanoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2017;23:5024–33.
- [36] Wang W, Yu D, Sarnaik AA, Yu B, Hall M, Morelli D, et al. Biomarkers on melanoma patient T cells associated with ipilimumab treatment. *J Transl Med* 2012;10:146.
- [37] Di Giacomo AM, Calabrò L, Danielli R, Fonsatti E, Bertocci E, Pesce I, et al. Long-term survival and immunological parameters in metastatic melanoma patients who responded to ipilimumab 10 mg/kg with in an expanded access programme. *Cancer Immunol Immunother CII* 2013;62:1021–8.
- [38] Di Giacomo AM, Ascierto PA, Queirolo P, Pilla L, Ridolfi R, Santinami M, et al. Three-year follow-up of advanced melanoma patients who received ipilimumab plus fotemustine in the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT)-M1 phase II study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2015;26:798–803.
- [39] Ng Tang D, Shen Y, Sun J, Wen S, Wolchok JD, Yuan J, et al. Increased frequency of ICOS+ CD4 T cells as a pharmacodynamic biomarker for anti-CTLA-4 therapy. *Cancer Immunol Res* 2013;1:229–34.
- [40] Funt S, Charen AS, Yusko E, Vignali M, Benzeno S, Boyd ME, et al. Correlation of peripheral and intratumoral T-cell receptor (TCR) clonality with clinical outcomes in patients with metastatic urothelial cancer (mUC) treated with atezolizumab [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34(15):3005.
- [41] Snyder A, Nathanson T, Funt SA, Ahuja A, Buros Novik J, Hellmann MD, et al. Contribution of systemic and somatic factors to clinical response and resistance to PD-L1 blockade in urothelial cancer: An exploratory multi-omic analysis. *PLoS Med* 2017;14:e1002309.
- [42] Karwacz K, Bricogne C, MacDonald D, Arce F, Bennett CL, Collins M, et al. PD-L1 co-stimulation contributes to ligand-induced T cell receptor down-modulation on CD8+ T cells. *EMBO Mol Med* 2011;3:581–92.
- [43] Escors D, Bricogne C, Arce F, Kochan G, Karwacz K. On the Mechanism of T cell receptor down-modulation and its physiological significance. *J Biosci Med* 2011 Jan;1(1).

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- [44] Postow MA, Manuel M, Wong P, Yuan J, Dong Z, Liu C, et al. Peripheral T cell receptor diversity is associated with clinical outcomes following ipilimumab treatment in metastatic melanoma. *J Immunother Cancer* 2015;3:23.
- [45] Robert L, Tsoi J, Wang X, Emerson R, Homet B, Chodon T, et al. CTLA4 blockade broadens the peripheral T-cell receptor repertoire. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2014;20:2424–32.
- [46] Oh DY, Cham J, Zhang L, Fong G, Klinger M, Faham M, et al. Association between T cell repertoire diversification and both clinical response as well as toxicity following immune checkpoint blockade in metastatic cancer patients [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [47] Ferrucci PF, Gandini S, Battaglia A, Alfieri S, Di Giacomo AM, Giannarelli D, et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of ipilimumab-treated metastatic melanoma patients. *Br J Cancer* 2015;112:1904–10.
- [48] Moschetta M, Kasenda B, Mak G, Voskoboynik M, Martynyuk N, Formica V, et al. Early neutrophil to lymphocyte ratio dynamics to predict progression free survival in patients treated with immune-checkpoint inhibitors [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [49] Nakamura Y, Kitano S, Takahashi A, Tsutsumida A, Namikawa K, Tanese K, et al. Nivolumab for advanced melanoma: pretreatment prognostic factors and early outcome markers during therapy. *Oncotarget* 2016;7:77404–15.
- [50] Zibelman MR, Judd J, Handorf E, O’Neill J, Bentota S, Doyle J, et al. Association of eosinophilia with efficacy in non-melanoma patients treated with programmed death 1 inhibitors [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [51] Delyon J, Mateus C, Lefeuvre D, Lanoy E, Zitvogel L, Chaput N, et al. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2013;24:1697–703.
- [52] Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 2015;372:2509–20.
- [53] Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med* 2014;371:2189–99.
- [54] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 2015;348:124–8.
- [55] Chae YK, Anker JF, Mohindra NA, Kaplan JB, Chandra S, Carneiro BA, et al. Mutational burden and activated T cell infiltration in lung squamous cell carcinomas with DNA repair mutations [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [56] Tsantoulis P, Hill LA, Walker SM, Wirapati P, Graham DM, Wilson RH, et al. Association of a specific innate immune response to DNA damage with DNA repair deficient colorectal cancers [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [57] Seguí E, Paré L, Adamo B, Pineda E, Marín-Aguilera M, Reig Ò, et al. Immune gene expression, survival outcome and response to PD-1/PD-L1 blockade: a TCGA pan-cancer analysis [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- [58] Navarro A, Arance A, Reguart N, Paré L, Galván P, Marti AM, et al. Association of response to programmed death 1 receptor or ligand (PD1/PDL1) blockade with immune-related gene expression profiling across three cancer-types [abstract]. *J Clin Oncol* 2016;34.
- [59] Hugo W, Zaretsky JM, Sun L, Song C, Moreno BH, Hu-Lieskovan S, et al. Genomic and Transcriptomic Features of Response to Anti-PD-1 Therapy in Metastatic Melanoma. *Cell* 2016;165:35–44.
- [60] Riaz N, Havel JJ, Kendall SM, Makarov V, Walsh LA, Desrichard A, et al. Recurrent SERPINB3 and SERPINB4 mutations in patients who respond to anti-CTLA4 immunotherapy. *Nat Genet* 2016;48:1327–9.
- [61] Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, Escuin-Ordinas H, Hugo W, Hu-Lieskovan S, et al. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med* 2016;375:819–29.
- [62] Snyder A, Pamer E, Wolchok J. IMMUNOTHERAPY. Could microbial therapy boost cancer immunotherapy? *Science* 2015;350:1031–2.
- [63] Sivan A, Corrales L, Hubert N, Williams JB, Aquino-Michaels K, Earley ZM, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015;350:1084–9.
- [64] Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, Lepage P, Waldschmitt N, Flament C, et al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science* 2015;350:1079–84.
- [65] Rubio-Godoy V, Dutoit V, Zhao Y, Simon R, Guillaume P, Houghten R, et al. Positional scanning-synthetic peptide library-based analysis of self- and pathogen-derived peptide cross-reactivity with tumor-reactive Melan-A-specific CTL. *J Immunol Baltim Md 1950* 2002;169:5696–707.
- [66] Wang J-L, Chang C-H, Lin J-W, Wu L-C, Chuang L-M, Lai M-S. Infection, antibiotic therapy and risk of colorectal cancer: a nationwide nested case-control study in patients with Type 2 diabetes mellitus. *Int J Cancer* 2014;135:956–67.
- [67] Vétizou M, Daillère R, Zitvogel L. Rôle du microbiote intestinal dans la réponse aux thérapies anti-tumorales. *Biol Aujourd'hui* 2017;211:51–67.
- [68] Massagué J. TGFbeta in Cancer. *Cell* 2008;134:215–30. doi:10.1016/j.cell.2008.07.001.
- [69] Gupta V, Davancaze T, Good J, Kalia N, Anderson M and al., Bioanalytical qualification of clinical biomarker assays in plasma using a novel multi-analyte Simple Plex™ platform, *Bioanalysis* 2016; 8(23):2415-2428.
- [70] Hamid O, Schmidt H, Nissan A, Ridolfi L, Aamdal S, Hansson J, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med* 2011;9:204.
- [71] Hwang SL, Chung NP-Y, Chan JK-Y, Lin C-LS. Indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) is essential for dendritic cell activation and chemotactic responsiveness to chemokines. *Cell Res* 2005;15:167–75.
- [72] Singer K, Gottfried E, Kreutz M, Mackensen A. Suppression of T-cell responses by tumor metabolites. *Cancer Immunol Immunother CII* 2011;60:425–31.
- [73] Santarpia M, González-Cao M, Viteri S, Karachaliou N, Altavilla G, Rosell R. Programmed cell death protein-1/programmed cell death ligand-1 pathway inhibition and predictive biomarkers: understanding transforming growth factor-beta role. *Transl Lung Cancer Res* 2015;4:728–42.

[74] Funaki S, Shintani Y, Kawamura T, Kanzani R, Minami M and al., Chemotherapy enhances programmed cell death 1/ligand 1 expression via TGF- β induced epithelial mesenchymal transition in non-small cell lung cancer, Onco Rep. 2017; 38(4) : 2277-2284

Légende des tableaux et des figures :

Tableau 1: études de phase III concernant le Nivolumab et le Pembrolizumab

Tableau 2 : études de phase II concernant l'Atezolizumab (anti-PDL-1)

Figure 1 : Biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de checkpoint (points de contrôle) immuns lors de la réaction immunitaire antitumorale

Predictive biomarkers of response to immune checkpoint inhibitors during anti-tumor immune response

Figure

[Click here to download high resolution image](#)

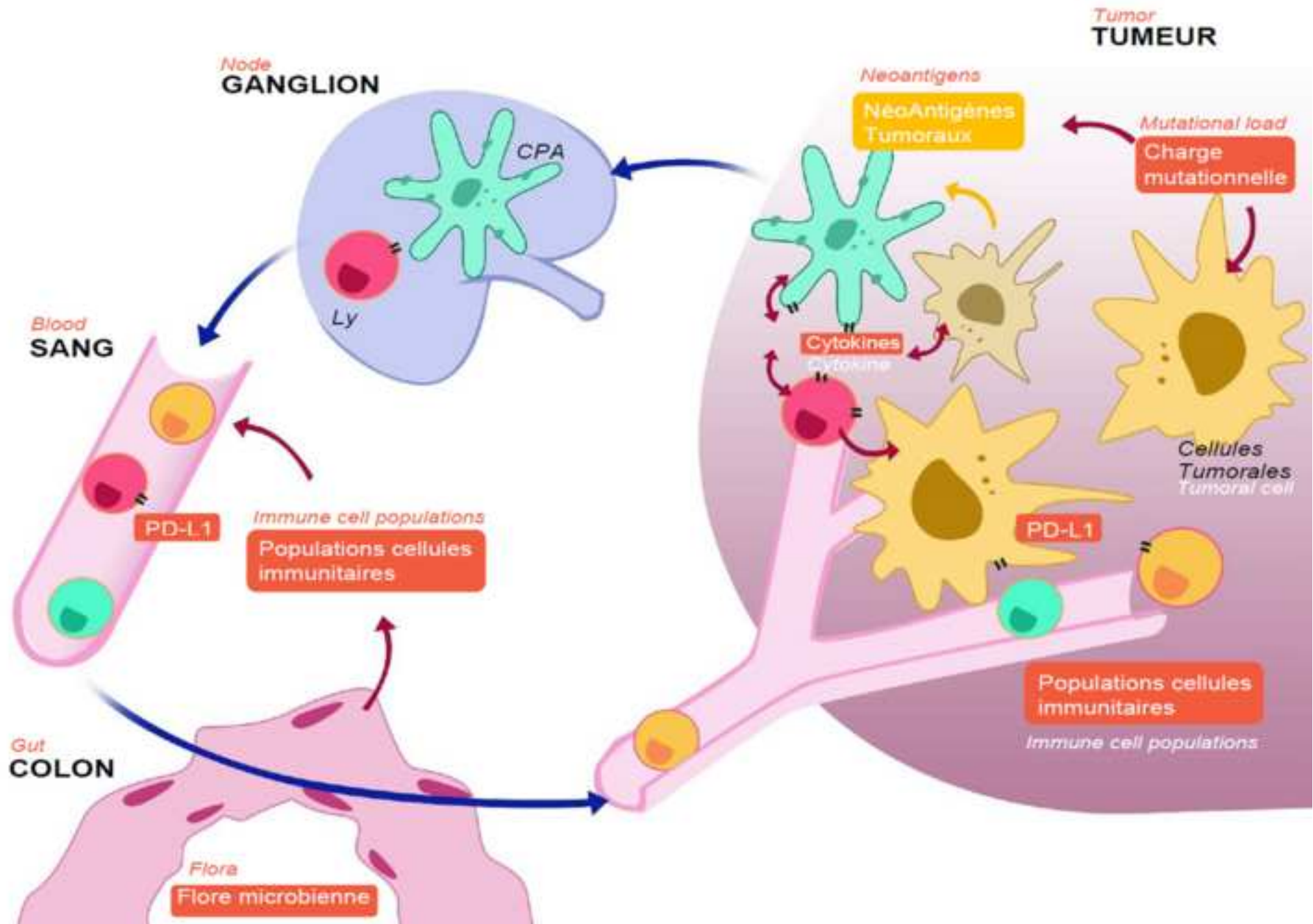


Tableau 1: études de phase III concernant le Nivolumab et le Pembrolizumab

Études	Type de tumeur	Immuno-histochimie	Seuil	PD-L1 prédictif
CheckMate 037 [10]	Mélanome	DAKO Clone 28-8	5 % CT	OUI
CheckMate 067 [7]	Mélanome	DAKO Clone 28-8	5 % CT	OUI
CheckMate 057 [11]	CBPNPC	DAKO Clone 28-8	1%-5%-10% CT	OUI
CheckMate 066 [12]	Mélanome	DAKO Clone 28-8	5 % CT	NON
CheckMate 017 [13]	CBPNPC	DAKO Clone 28-8	1%-5%-10% CT	NON
CheckMate 025 [8]	Carcinome rénal	DAKO Clone 28-8	<1%, <5%, ≥ 5%CT	NON
KEYNOTE 006 [14]	Mélanome	DAKO Clone 22c3	1% CT +CME	NON
KEYNOTE 010 [15]	CBPNPC	DAKO Clone 22c3	50 % CT	OUI
KEYNOTE 040 [16]	Cancer ORL	DAKO Clone 22c3	1% CT	?
KEYNOTE 024 [17]	CBPNPC	DAKO Clone 22c3	50 % CT	?

CT= Cellules tumorales ; CME= Cellules du microenvironnement ; CBPNPC = Cancer Broncho-Pulmonaire Non à Petites Cellules

Tableau 2 : études de phases I-II concernant l'Atezolizumab et le Durvalumab (anti-PD-L1)

POPLAR [18] : phase 2	CBPNPC	Ventana Clone SP 142	50-5-1%CT 10-5-1%CME	OUI
IMvigor 210 [19]	Carcinome urothélial	Ventana Clone SP 142	1-5%CME	OUI
NCT01693562 [20] Phase 1-2	Carcinome urothélial vessie	Ventana Clone SP 263	25% CME et/ou CT	OUI
NCT01693562 [21] Phase 1-2	Carcinome urothélial	Ventana Clone SP 263	25% CME et/ou CT	OUI