



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>



UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1
FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

2020

THESE n°36

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le **12 Juin 2020** par

Mme CHAPUT Lisa

Née le 24 octobre 1993

à Aix-les-Bains (73)

INHIBITEURS DU PD-1/PD-L1 :
CONTEXTE DE LEUR DEVELOPPEMENT CLINIQUE
ET ENJEUX DES BIOMARQUEURS PREDICTIFS DE LEUR EFFICACITE

JURY

Mme MOYRET-LALLE Caroline, Professeur des Universités
M. JORDHEIM Lars Petter, Maître de Conférences Universitaire
M. DUMONTET Charles, Professeur des Universités-Praticien Hospitalier
Mme LEONCE Camille, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

- | | |
|---|----------------------|
| • Président de l'Université | Frédéric FLEURY |
| • Présidence du Conseil Académique | Hamda BEN HADID |
| • Vice-Président du Conseil d'Administration | Didier REVEL |
| • Vice-Président de la Commission Recherche | Jean François MORNEX |
| • Vice-Président de la Formation et de la Vie Universitaire | Philippe CHEVALIER |

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

UFR de Médecine Lyon Est	Directeur : M. Gilles RODE
UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux	Directrice : Mme Carole BURILLON
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA
UFR d'Odontologie	Directrice : Mme Dominique SEUX
Institut des Sciences et Techniques de Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

UFR Fédération Sciences (Chimie, Mathématique, Physique)	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI
UFR Biosciences	Directrice : Mme Kathrin GIESELER
Département composante Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département composante Génie Electrique et des procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département composante Mécanique	Directeur : M. Marc BUFFAT
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
Polytech Lyon	Directeur : M. Emmanuel PERRIN
I.U.T. LYON 1	Directeur : M. Christophe VITON
Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
ISPB -Faculté de Pharmacie Lyon

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Raphaël TERREUX (PR)
Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)
Madame Anne DENUZIERE (MCU)
Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU-HDR)
Madame Christelle MACHON (MCU-PH)
Monsieur Waël ZEINYEYEH (MCU)

- **PHARMACIE GALENIQUE - COSMETOLOGIE**

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (PR)
Madame Stéphanie BRIANCON (PR)
Monsieur Fabrice PIROT (PU-PH)
Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Danielle CAMPIOL ARRUDA (MCU)
Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU-HDR)
Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
Madame Giovanna LOLLO (MCU)
Madame Jacqueline RESENDE DE AZEVEDO (MCU)
Monsieur Damien SALMON (MCU-PH)
Madame Eloïse THOMAS (MCU)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (PR)
Madame Laurence HEINRICH (MCU)
Monsieur David KRYZA (MCU-PH-HDR)
Madame Sophie LANCELOT (MCU-PH)
Madame Elise LEVIGOUREUX (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Madame Valérie SIRANYAN (PR)
Madame Maud CINTRAT (MCU)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU-HDR)
Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU-HDR)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU-HDR)

- **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Xavier ARMOIRY (PU-PH)
Madame Claire GAILLARD (MCU)

- **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**
 Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)
 Monsieur Vincent GROS (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
 Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)
 Madame Pascale PREYNAT (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
- **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**
 Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU-PH-HDR)
 Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
 Madame Marie-Paule GUSTIN (MCU-HDR)
 Madame Delphine HOEGY (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**
 Monsieur Pascal NEBOIS (PR)
 Madame Nadia WALCHSHOFER (PR)
 Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU-HDR)
 Madame Christelle MARMINON (MCU)
 Madame Sylvie RADIX (MCU-HDR)
 Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU-HDR)
- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**
 Monsieur Marc LEBORGNE (PR)
 Monsieur Thierry LOMBERGET (PR)
 Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU-HDR)
 Monsieur François HALLE (MCU)
 Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**
 Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (PR)
 Madame Anne-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)
 Madame Isabelle KERZAON (MCU)
 Monsieur Serge MICHALET (MCU)
- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**
 Madame Roselyne BOULIEU (PU-PH)
 Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (PU-PH)
 Madame Catherine RIOUFOL (PU-PH)
 Madame Magali BOLON-LARGER (MCU-PH)
 Madame Céline PRUNET-SPANNO (MCU)
 Madame Florence RANCHON (MCU-PH)
 Monsieur Teddy NOVAIS (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**
 Monsieur Jérôme GUITTON (PU-PH)
 Madame Léa PAYEN (PU-PH)
 Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)

- **PHYSIOLOGIE**
 - Monsieur Christian BARRES (PR)
 - Madame Kiao Ling LIU (MCU)
 - Monsieur Ming LO (MCU-HDR)

- **PHARMACOLOGIE**
 - Monsieur Sylvain GOUTELLE (PU-PH)
 - Monsieur Michel TOD (PU-PH)
 - Monsieur Luc ZIMMER (PU-PH)
 - Monsieur Roger BESANCON (MCU)
 - Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU-PH)
 - Madame Evelyne CHANUT (MCU)
 - Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
 - Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU-HDR)

- **COMMUNICATION**
 - Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)

- **ENSEIGNANTS CONTRACTUELS TEMPS PARTIEL**
 - Madame Aline INIGO PILLET (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
 - Madame Pauline LOUBERT (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**
 - Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
 - Monsieur Sébastien VIEL (MCU-PH)
 - Madame Morgane GOSSEZ (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**
 - Madame Christine VINCIGUERRA (PU-PH)
 - Madame Sarah HUET (MCU-PH)
 - Monsieur Yohann JOURDY (MCU-PH)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**
 - Monsieur Frédéric LAURENT (PU-PH)
 - Madame Florence MORFIN (PU-PH)
 - Madame Veronica RODRIGUEZ-NAVA (PR)
 - Monsieur Didier BLAHA (MCU-HDR)
 - Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
 - Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH-HDR)
 - Madame Emilie FROBERT (MCU-PH)
 - Monsieur Jérôme JOSSE (MCU)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**
 - Monsieur Philippe LAWTON (PR)
 - Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
 - Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU-HDR)
 - Madame Camille LOURS (AHU)
 - Madame Amy DERICQUEBOURG (AHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (PR)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (PR)
Madame Emilie BLOND (MCU-PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU-PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU-PH-HDR)
Monsieur Anthony FOURIER (MCU-PH)
Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU-HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur David GONCALVES (AHU)
Monsieur Alexandre JANIN (AHU)

Madame Nadjat LEBSIR (ATER)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU-HDR)

INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (PR)
Monsieur Philippe LAWTON (PR)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Marie-Françoise KLUCKER (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
Madame Valérie VOIRON (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

PR : Professeur des Universités

PU-PH : Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences des Universités

MCU-PH : Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

REMERCIEMENTS

Aux membres de mon jury de thèse,

A mon directeur de thèse, le **Docteur Lars Petter Jordheim**, je vous remercie chaleureusement pour avoir accepté ma proposition de sujet qui me tenait à cœur et vous présente toute ma gratitude pour le temps que vous m'avez consacré. Un grand merci pour vos conseils avisés et votre bienveillance qui ont permis l'aboutissement de mon travail.

A Madame le **Professeur Caroline Moyret-Lalle**, tous mes remerciements pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury. Votre cours d'introduction à la cancérologie et l'enseignement dirigé de 2016 ont fait naître ma curiosité pour l'oncologie et ont été déterminants pour mon orientation.

J'adresse mes remerciements au **Professeur Charles Dumontet**, pour avoir accepté de faire partie des membres du jury. Je suis heureuse de vous présenter mon travail au regard de votre expérience dans le domaine de l'immuno-oncologie.

Je remercie enfin chaleureusement le **Docteur Camille Léonce**, pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse dans ces circonstances particulières. C'est avec plaisir que je vous présente aujourd'hui mon travail.

Aux équipes qui m'ont accueillie lors de mes stages et au début de ma vie professionnelle et qui ont participé à l'orientation de ma carrière,

A toute l'équipe de **Pharmacovigilance du LYSARC**, à Aude, à Noélie, je vous remercie pour votre accueil chaleureux et pour suivre encore aujourd'hui mes aventures à force d'encouragements.

A l'équipe du **BEC du Centre Léon Bérard**, au personnel soignant, aux patients que j'ai rencontrés, vous m'avez permis de découvrir le terrain même des essais cliniques et le monde des immunothérapies. Je vous remercie pour votre patience, vos enseignements et votre confiance. Elodie, je te remercie d'être encore là aujourd'hui pour me donner un coup de main quand il y a besoin et pour ton soutien infaillible à chaque étape.

Aux équipes oncologie de chez Pfizer, et à Gwénaél à qui je dois la quantité de revues de littérature à l'origine de ce sujet de thèse et de mon intérêt pour les biomarqueurs. Ils m'ont également fait mesurer l'importance de la curiosité et de la remise en question dans ce monde si évolutif qu'est l'oncologie. Merci pour votre soutien.

A ma famille,

A mes parents. Vous m'avez suivie dans toutes ces années d'études avec fierté et dans mes décisions même sans trop comprendre ce que je faisais réellement. Merci pour vos encouragements permanents et vos sacrifices qui m'ont permis d'arriver où je suis aujourd'hui.

A Benjamin, merci de m'accompagner quotidiennement pour la 8ème année, de choisir quand j'hésite trop, d'avoir sacrifié de nombreux week-ends et jours fériés cette dernière année, d'accepter de me suivre où que j'aille.

A mes grands-parents qui auraient été très contents.

Et pour finir, à mes amis,

A Angélique et à Marine, vous m'avez soutenue dans mes études et vous suivez toujours de près mes aventures. J'ai hâte de vous avoir à mes côtés pour la prochaine.

Aux amis proches, anciens collègues de travail et à Thomas mon ancien manager sur qui je peux toujours compter, je vous remercie pour votre soutien, votre intérêt et pour vos nombreux « Alors, cette thèse ? » qui ont rythmés nos conversations ces deux dernières années !

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	6
TABLE DES MATIERES	8
LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DES FIGURES	12
TABLE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES	13
INTRODUCTION	15
1 GENERALITES SUR L'ONCOGENESE, L'IMMUNITE ANTI-TUMORALE ET LES INHIBITEURS DU POINT DE CONTRÔLE IMMUNITAIRE PD-1/PD-L1	17
1.1 Principes de l'oncogénèse	18
1.1.1 Les propriétés acquises de la cellule cancéreuse : « <i>the Hallmarks of Cancer</i> »	18
1.1.1.1 Stimulation maintenue et autonome du signal de croissance cellulaire	19
1.1.1.2 Insensibilité aux signaux anti-prolifératifs	20
1.1.1.3 Résistance à l'apoptose	21
1.1.1.4 Potentiel de réplication illimité	21
1.1.1.5 Angiogenèse continue	22
1.1.1.6 Invasion tissulaire à distance	23
1.1.2 Les capacités émergentes et propriétés favorisant le développement tumoral	24
1.1.2.1 Les propriétés du microenvironnement tumoral favorisant l'oncogénèse	24
1.1.2.1.1 Instabilité génomique	24
1.1.2.1.2 Inflammation favorisant l'oncogénèse	25
1.1.2.2 Modulation du métabolisme énergétique cellulaire	26
1.1.2.3 Echappement au contrôle du système immunitaire	26
1.2 Système immunitaire et cellule cancéreuse : impacts respectifs	27
1.2.1 Concept de l'immunoédition : le système immunitaire contre le cancer	27
1.2.1.1 L'élimination par l'immunosurveillance	28
1.2.1.2 L'équilibre	28
1.2.1.3 L'échappement tumoral ou immunoévasion	29
1.2.2 Tolérance et échappement tumoral : le cancer contre le système immunitaire	29
1.2.2.1 Immunorégulation en situation physiologique	29
1.2.2.2 Le signal PD-(L)1 dans le contrôle de l'auto-immunité	30
1.2.2.3 Le signal PD-1 et PD-L1 dans l'échappement tumoral	31
1.3 Inhibiteurs du récepteur PD-1 et du ligand PD-L1	32
1.3.1 Arsenal thérapeutique approuvé	32
1.3.1.1 Inhibiteurs du récepteur PD-1	33
1.3.1.2 Inhibiteurs du PD-L1	33
1.3.1.3 Caractéristiques structurales et activité clinique	39

1.3.1.3.1	Choix des immunoglobulines _____	39
1.3.1.3.2	Activité clinique _____	41
1.3.2	Données d'efficacité et intérêt d'un biomarqueur prédictif sensible et spécifique _____	43
1.3.2.1	Place dans la stratégie thérapeutique _____	43
1.3.2.2	Identification d'un premier biomarqueur prédictif potentiel de la réponse au traitement et observation de phénomènes de résistance au traitement _____	44
1.3.3	Mécanismes de résistance innée ou acquise aux inhibiteurs du PD-(L)1 _____	49
1.4	Conclusion _____	52
2	<i>IDENTIFICATION DE BIOMARQUEURS PREDICTIFS DE LA REPONSE AU TRAITEMENT PAR INHIBITEURS DU SIGNAL PD-(L)1 _____</i>	53
2.1	Biomarqueurs liés à la tumeur et au système immunitaire _____	54
2.1.1	Expression du PD-L1 _____	54
2.1.1.1	Détection du PD-L1 membranaire : test diagnostique par immunohistochimie _____	54
2.1.1.2	Détection du PD-L1 soluble : une piste à explorer _____	58
2.1.2	Composante immunitaire des tumeurs et de leur microenvironnement _____	59
2.1.2.1	Les lymphocytes comme outil thérapeutique _____	59
2.1.2.2	Les lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs) _____	60
2.1.2.2.1	Valeur pronostique _____	60
2.1.2.2.2	Valeur prédictive de la réponse au traitement _____	61
2.1.2.3	Le microenvironnement immunitaire _____	63
2.1.2.3.1	Les structures lymphoïdes tertiaires _____	64
2.1.2.3.2	Les macrophages _____	65
2.2	Biomarqueurs liés au génome _____	66
2.2.1	Mutations d'oncogènes _____	66
2.2.1.1	La voie PTEN-PI3K _____	67
2.2.1.2	La voie EGFR-Ras-Raf-MAPK _____	67
2.2.1.3	C-MYC, VHL et HIFs _____	68
2.2.1.4	Les gènes de fusion d'ALK _____	69
2.2.1.5	Les facteurs de transcription _____	69
2.2.2	Charge mutationnelle et répertoire néoantigénique _____	70
2.2.2.1	Mutations somatiques et signatures mutationnelles _____	70
2.2.2.2	Potentiel prédictif de la charge mutationnelle sur l'efficacité des immunothérapies _____	72
2.2.2.2.1	Lien avec la charge néoantigénique _____	72
2.2.2.2.2	Corrélation entre la charge mutationnelle et l'efficacité des immunothérapies _____	73
2.2.2.3	Développement comme biomarqueur _____	75
2.2.2.3.1	Validité des données _____	75
2.2.2.3.2	Standardisation du système de mesure _____	75
2.2.2.3.3	Tests développés et techniques émergentes _____	78

2.2.2.4	Valeur prédictive de phénotypes particuliers _____	79
2.2.3	Déficit en système de réparation des mésappariements et instabilité microsatellitaire _____	82
2.3	Biomarqueurs liés à l'hôte et à l'environnement _____	85
2.3.1	Le microbiome _____	85
2.3.1.1	Les oncogènes viraux _____	85
2.3.1.2	Composition du microbiote intestinal _____	87
2.3.2	Marqueurs de l'inflammation _____	90
	<i>DISCUSSION ET PERSPECTIVES</i> _____	97
	<i>CONCLUSION</i> _____	103
	<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i> _____	107

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-1 (état du 01/04/2020).....	34
Tableau 2 : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-L1 (état du 01/04/2020).....	37
Tableau 3 : Impact du TPS du PD-L1 dans l'efficacité et la réponse au traitement : résumé des données précédemment citées.	47
Tableau 4 : Tests diagnostiques IHC PD-L1 approuvés et considérés comme référence (état du 01/04/2020).....	55

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation des six propriétés de la cellule tumorale.....	18
Figure 2 : Propriétés émergentes et caractéristiques favorisant l'oncogenèse.	24
Figure 3 : PD-L1 dans l'immunoévasion de la cellule tumorale.	31
Figure 4 : Mécanisme d'action des inhibiteurs du PD-1 et du PD-L1.....	42
Figure 5 : Synthèse des mécanismes pouvant induire une résistance aux inhibiteurs du PD-(L)1. 51	
Figure 6 : Estimation de la charge mutationnelle par type de cancer.....	71
Figure 7 : Signatures mutationnelles observées par type de cancer.	72
Figure 8 : Charge mutationnelle et prédiction de la charge néoantigénique correspondante par type de tumeur.....	73
Figure 9 : Caractéristiques associées à la signature inflammatoire des tumeurs.....	90
Figure 10 : Mécanismes et facteurs à l'origine des différents profils inflammatoires tumoraux. ...	92
Figure 11 : Scores de la signature d'inflammation tumorale.	93
Figure 12 : Représentation d'un immunogramme dans la décision thérapeutique.	99
Figure 13 : Schématisation des interactions entre les propriétés intrinsèques de la tumeur, le microenvironnement, les résistances thérapeutiques et les biomarqueurs qui permettraient de les appréhender.....	103

TABLE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES

ADN	Acide Désoxyribonucléique
Akt	Protéine kinase B
ALK	Kinase du Lymphome Anaplasique
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
AP-1	Protéine Activatrice 1
BCL2	Gène du lymphome à cellules B 2
BRAF	<i>v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1</i>
CBNPC	Cancer Bronchique Non à Petites Cellules
CCDA	Cytotoxicité à médiation Cellulaire Dépendante des Anticorps
CCR	Carcinome à Cellules Rénales
CD	Cluster de Différenciation
CDC	Cytotoxicité Dépendante du Complément
C_H2	Domaine 2 de la chaîne lourde
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPS	Score Positif Combiné (<i>Combined Positive Score</i>)
CTLA-4	Antigène 4 des lymphocytes T cytotoxiques
CXCL13	Ligand chimiokine 13 à motif CXC
DC-LAMP	Cellules dendritiques porteuses de glycoprotéines de membranes associées aux lysosomes
EBV	Virus Esptein-Barr
EGFR	Récepteur du facteur de croissance épidermique
EMA	Agence Européenne du Médicament
ERK	<i>Extracellular signal-Regulated Kinase/MAPK</i>
ESMO	Société Européenne d'Oncologie Médicale
Fas	Fragment inducteur d'apoptose
FDA	Agence Américaine des Produits Alimentaires et Médicamenteux
Fc	Fragment constant
FcγR(s)	Récepteur(s) du Fragment constant gamma
HER2	Récepteur du facteur de croissance Epidermique Humain type 2
HIF	Facteur Induit par l'Hypoxie
HLA	Antigènes de Leucocytes Humains
HPV	Papillomavirus Humain
HTLV-1	Virus T-Lymphotropique Humain 1
HVH8	Herpès Virus Humain type 8
IFN_γ	Interféron gamma
IgG1/G2/G4	Immunoglobuline G de type 1/2/4
IHC	(Test) immunohistochimique
JAK	<i>Janus Kinase</i>
KRAS	<i>V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
LKB1	Kinase hépatique B1
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCPyV	Polyomavirus à Cellules de Merkel
MDSC	Cellules Myéloïdes Suppressives
MEK	<i>Mitogen Activated Protein Kinase Kinase</i>
MMRd	Déficit en système de Réparation des Mésappariements
MSI	Instabilité Microsatellitaire

mTOR	Cible mécanistique de la Rapamycine
MSH2 / MSH6	<i>MutS homolog 2 et 6</i>
MLH1	<i>MutL homog 1</i>
NF-κB	Facteur Nucléaire kappa B
NK	Cellules Tueuses Naturelles
p53	Protéine tumorale p53
PD-1	Protéine 1 de mort cellulaire programmée
PD-L1	Ligand 1 ou Ligand 2 de la protéine 1 de mort cellulaire
PD-L2	programmée
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
PMS2	<i>Post-meiotic segregation 2</i>
POLE	ADN Polymerase epsilon
PTEN	<i>Phosphatase and TENsin Homolog</i>
RAF	<i>Rapidly Accelerated Fibrosarcoma</i>
RAS	<i>Retrovirus Associated Sequence</i>
Rb	Protéine du gène du Rétinoblastome
RB1	Gène du Rétinoblastome
sPD-1	Protéine 1 de mort cellulaire programmée soluble
sPD-L1	Ligand 1 de la protéine 1 de mort cellulaire programmée soluble
STAT	Facteur Transducteur du Signal et Activateur de la Transcription
STK11	Sérine Thréonine Kinase 11
TAMs	Macrophages Associés aux Tumeurs
TCR	Récepteur des Cellules T
TGFβ	Facteur de croissance transformant bêta
Th (lymphocytes)	Lymphocytes auxiliaires (<i>T helper</i>)
TILs	Lymphocytes T infiltrant
TILs PD-L1^T	Lymphocytes T infiltrant surexprimant PD-L1
TIM-3	Protéine-3 des cellules T contenant un domaine immunoglobuline et un domaine mucine
TLR	Récepteur de type <i>Toll</i>
TLS	Structure Lymphoïdes Tertiaires
TNFα	Facteur de Nécrose Tumorale alpha
TNM	Tumeur, Ganglions, Métastases (<i>Tumor, Node, Metastasis</i>)
TP53	Gène de la Protéine Tumorale 53
TPS	Score de Proportion Tumorale
Treg (lymphocytes)	(Lymphocytes) T régulateurs
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VEGFR	Récepteur du VEGF
VHL	Gène Von-Hippel Lindau
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

INTRODUCTION

Le traitement d'un cancer est un challenge médical et durant plusieurs décennies, la stratégie thérapeutique était composée de la triade chirurgie, radiothérapie et chimiothérapie (1,2). A partir des années 1970, les mécanismes moléculaires et génétiques liés au cancer ont été progressivement caractérisés, et ont servi de base au développement d'agents ciblés issus des biotechnologies, plus spécifiques et mieux tolérés (2). En 2004, les premières thérapies ciblées anti-angiogéniques ont été approuvées (3–6). Elles permettent de cibler la surexpression de facteurs pro-angiogéniques par les cellules tumorales, impliqués dans la croissance tumorale et la prolifération métastatique (2,7). En ciblant spécifiquement l'expression de ces facteurs, ces agents induisent des effets secondaires périphériques limités, contrairement aux chimiothérapies dont l'activité cytotoxique est également dirigée sur les cellules saines (1,8). Toutefois, de nombreux phénomènes de résistances innées ou acquises ont été observés, limitant finalement l'efficacité au long-terme de ces traitements. Des travaux ont donc été réalisés afin d'en déterminer l'origine et ont mis en évidence le rôle d'autres éléments constitutifs du microenvironnement tumoral, tel que le système immunitaire (7).

Le 1^{er} octobre 2018, le prix Nobel de médecine ou physiologie a été décerné aux Professeurs Tasuku Honjo, immunologiste et professeur à l'Université de Kyoto, et James Allison, immunologiste et professeur à l'Université du Texas MD Anderson Cancer Center (8–10). Les lauréats ont été récompensés pour leurs découvertes en immuno-oncologie sur les points de contrôle immunitaire et leur fonction dans l'immunogénicité tumorale (9). Le Professeur Honjo a contribué à l'identification de la protéine 1 de mort cellulaire programmée (*Programmed cell Death type 1* ou PD-1) en 1992 (11). Ses travaux ont ensuite porté sur ce récepteur, dit point de contrôle immunitaire, puis ses ligands afin d'en comprendre l'implication dans le cancer. Le Professeur Allison a participé à l'identification de l'Antigène-4 des lymphocytes T cytotoxiques (*Cytotoxic T-Lymphocytes-Associated protein 4* ou CTLA-4) en 1987, également considéré comme point de contrôle immunitaire (8). Ces découvertes ont contribué à l'apparition des immunothérapies et des inhibiteurs des points de contrôle immunitaire, ce qui constitue un paradigme dans l'approche thérapeutique anticancéreuse où la cible n'est plus la cellule tumorale mais le système immunitaire en place (8,12).

Depuis une dizaine d'années, les thérapies ciblées et immunothérapies sont donc venues compléter l'arsenal thérapeutique des agents antinéoplasiques. En dépit de leur efficacité prometteuse dans de nombreux types de cancers, les données montrent que certains patients ne semblent pas répondre parfaitement à ces agents, en résistant d'emblée ou plus tardivement au traitement. Ces observations supportent la nécessité d'identifier des biomarqueurs prédictifs de leur efficacité afin de tirer le plus de bénéfice de l'arsenal thérapeutique actuellement disponible. Cette recherche de biomarqueurs s'inscrit dans le contexte de médecine personnalisée basée sur les preuves, où le choix de l'agent adapté repose à présent sur les caractéristiques cliniques, moléculaires et génétiques identifiées chez le patient. Ces données permettent ainsi d'anticiper la réponse au traitement ciblé et servent donc de rationnel à la décision thérapeutique.

L'objectif de cette thèse est de fournir une revue actualisée des biomarqueurs prédictifs de l'efficacité des inhibiteurs du point de contrôle immunitaire PD-1 et du ligand 1 de la protéine 1 de mort cellulaire programmée (*Programmed Death Cell Ligand 1* ou PD-L1), le contexte de leur découverte, leur intérêt, et les limites de leur utilisation. Dans une première partie, nous retracerons les grands principes de l'oncogenèse et de l'immunité anti-tumorale à l'origine du développement des inhibiteurs du PD-(L)1. Nous décrirons également l'arsenal thérapeutique disponible en Europe, son utilisation, et les cas de résistances thérapeutiques qui servent de rationnel à la recherche de biomarqueurs. Dans la deuxième partie, les biomarqueurs identifiés ou à l'étude seront discutés. Nous évoquerons pour cela les éléments qui ont conduit à leur identification. Nous décrirons leur utilité dans la décision thérapeutique et également les dispositifs de diagnostic *in vitro* destinés à leur mesure le cas échéant. Enfin, nous discuterons les limites de ces biomarqueurs dans la prédiction de la réponse au traitement.

1 GENERALITES SUR L'ONCOGENESE, L'IMMUNITE ANTI-TUMORALE ET LES INHIBITEURS DU POINT DE CONTRÔLE IMMUNITAIRE PD-1/PD-L1

1.1 Principes de l'oncogenèse

L'oncogenèse se caractérise par plusieurs propriétés distinctes et complémentaires acquises par la cellule saine et responsables de sa transformation en cellule cancéreuse (13,14). Ces propriétés correspondent à des altérations dans la machinerie cellulaire qui, en situation physiologique, régule la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules saines.

Six propriétés ont été initialement identifiées, lors de nombreuses études réalisées à la fin du XXème siècle, puis recensées dans une revue par Douglas Hanahan et Robert Weinberg en 2000 (Figure 1) (13). Ces propriétés ont été complétées et corrigées à la suite de l'acquisition de nouvelles données durant la décennie suivante, et recensées de nouveau par D. Hanahan et R. Weinberg dans une revue actualisée en 2011 (14). Le cancer est alors appréhendé sous un nouvel aspect, intégrant la cellule cancéreuse elle-même mais aussi le microenvironnement tumoral et ses relations avec l'hôte. Nous allons voir certains de ces paramètres, qui servent de base aux concepts de thérapies ciblées et d'immunothérapies du cancer.

1.1.1 Les propriétés acquises de la cellule cancéreuse : « the Hallmarks of Cancer »

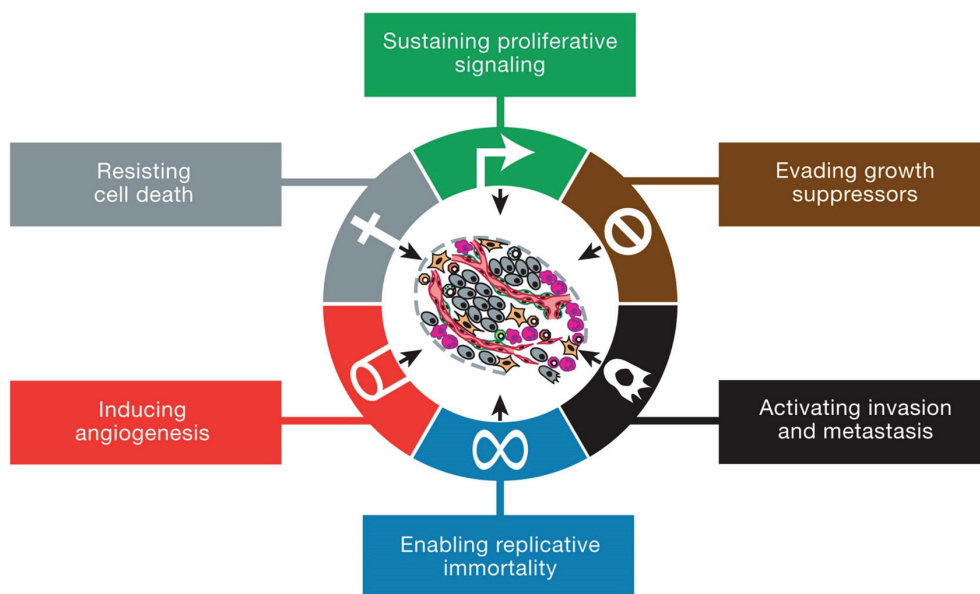


Figure 1 : Représentation des six propriétés de la cellule tumorale. Reproduction autorisée, d'après Hanahan et Weinberg (14).

1.1.1.1 Stimulation maintenue et autonome du signal de croissance cellulaire

Lors du cycle cellulaire, le passage physiologique d'un stade quiescent à un stade prolifératif est induit par la présence de facteurs de croissance mitogènes qui sont captés par la cellule *via* des récepteurs transmembranaires, en particulier les récepteurs aux tyrosines kinases (15,16). La liaison ligand-récepteur produit un signal, transduit par le récepteur, qui active une cascade de signalisation intracellulaire, notamment la voie des *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK) impliquée dans la régulation du cycle cellulaire (17,18). De nombreux mécanismes physiologiques interviennent dans la balance entre la transduction de signaux activateurs ou inhibiteurs de la division cellulaire.

Les cellules tumorales acquièrent la capacité de stimuler de manière autonome et soutenue le signal de croissance, en agissant au niveau extracellulaire ou intracellulaire. L'auto-synthèse de facteurs de croissance a été l'un des premiers mécanismes identifiés (19). Surexprimés par rapport à la situation physiologique, ils induisent une stimulation autocrine de la cellule cancéreuse qui rompt l'équilibre naturel en faveur d'une prolifération active (20). Cette propriété confère à la tumeur une relative indépendance vis-à-vis du milieu, et lui permet donc de proliférer également dans un milieu isolé. Les cellules cancéreuses peuvent aussi stimuler les cellules saines présentes dans l'environnement tumoral afin de forcer la sécrétion paracrine de facteurs de croissance exogènes (21).

Au niveau de la paroi cellulaire, les récepteurs aux tyrosines kinases peuvent être surexprimés ou présenter une altération structurale (22–24). Ces anomalies contribuent à exacerber la sensibilité des récepteurs aux facteurs exogènes, parfois présents en quantité qui, en situation physiologique, n'engendrerait pas de signal prolifératif. Les cellules tumorales peuvent également influencer le type de récepteurs qu'elles expriment, et en particulier les intégrines afin de favoriser celles impliquées dans la transduction des signaux de croissance et de migration (25).

La prolifération autonome de la cellule cancéreuse peut être également induite par l'altération des protéines impliquées dans la cascade de signalisation intracellulaire. L'altération structurale de la protéine codée par le gène *Retrovirus Associated Sequences* (*RAS*), par exemple liée à la mutation de l'oncogène *V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog* (*KRAS*), lui permet de libérer des signaux mitogéniques sans nécessiter d'induction par la liaison ligand-récepteur (26). D'autres mécanismes analogues ont été identifiés, comme l'altération fonctionnelle du gène suppresseur de tumeur *Phosphatase and TENsin homolog* (*PTEN*) ou l'inhibition pharmacologique de la cible mécanistique de la

Rapamycine (*mTOR*), qui conduisent à l'amplification du signal porté par la PI3 kinase (PI3K) et ses effecteurs la protéine kinase B (Akt) et la mTOR (27–31).

Toutefois, la caractérisation des oncogènes et de leur implication dans la prolifération tumorale a permis de mettre en évidence un phénomène paradoxal : la surexpression d'oncogènes induirait la sénescence de la cellule tumorale (32). Pour survivre, certaines cellules sont donc capables d'ajuster la quantité de signaux prolifératifs afin d'échapper à ce mécanisme de sénescence induite, tandis que d'autres cellules tumorales peuvent supporter un niveau élevé de signaux oncogéniques grâce à l'acquisition de capacités alternatives comme la résistance à la sénescence et à l'apoptose (33,34).

1.1.1.2 *Insensibilité aux signaux anti-prolifératifs*

Le maintien de l'homéostasie cellulaire au sein des tissus et la régulation de la division cellulaire reposent sur l'équilibre entre les signaux de croissance et les signaux anti-prolifératifs (15). Le principe de transduction du signal reste le même : les facteurs anti-prolifératifs solubles comme le facteur de croissance transformant bêta ($TGF\beta$) présents dans l'environnement de la cellule sont captés par les récepteurs transmembranaires (35–39). Cette liaison active une cascade de signalisation intracellulaire en faveur de l'arrêt de la prolifération cellulaire. La plupart de ces signaux sont dépendants de gènes suppresseurs de tumeur, en particulier le gène du rétinoblastome (*RBI*) et le gène de la protéine tumorale p53 (*TP53*) (40–42). *RBI* a un rôle dans la transduction des signaux extracellulaires tandis que *TP53* est mobilisé en présence d'anomalies intracellulaires (altérations génomiques, stress oxydatif, anomalies métaboliques, excès de signaux prolifératifs) (43,44). La cellule passe alors soit en phase de quiescence réversible, qui pourra être réactivée par un signal de croissance, soit en phase post-mitotique irréversible, qui conduira à la différenciation de la cellule (15).

Un autre mécanisme prépondérant est l'inhibition de contact. Ce mécanisme implique les gènes de la neurofibromatose de type 2 (*NF2*) et de la kinase hépatique B1 (*LKB1*), dont les produits sont responsables de l'adhésion cellulaire, de la séquestration des signaux mitogéniques et du maintien de l'intégrité tissulaire *via* l'organisation de la structure épithéliale (45–47). La création des jonctions intercellulaires constitue donc également un signal d'arrêt de prolifération.

La cellule tumorale devient insensible à ces signaux inhibiteurs grâce à des mutations ou dérégulations du récepteur au TGF β , à plusieurs niveaux dans la cascade de signalisation, ou encore au niveau des gènes *TP53* et *RBI* (42,48,49).

Par ailleurs, dans la mesure où la cellule acquiert la capacité de favoriser l'expression des récepteurs responsables de la transduction des signaux de croissance, cela implique par extension l'inhibition de ceux impliqués dans la transduction des signaux anti-prolifératifs (25).

Finalement, la cellule tumorale est en mesure de compromettre l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs impliqués dans l'inhibition de contact (46).

1.1.1.3 Résistance à l'apoptose

En situation physiologique, la multiplication des cellules est également limitée par la mort cellulaire programmée, au moyen de deux voies de signalisation (50). La voie extrinsèque, médiée par le fragment inducteur d'apoptose (Fas), est impliquée dans la transduction des signaux extracellulaires (51,52). La voie intrinsèque mitochondriale est activée en présence d'anomalies intracellulaires, comme les altérations de l'acide désoxyribonucléique (ADN) détectées par p53 ou l'activation de l'oncoprotéine Myc (53–55). Cette voie est principalement médiée par les protéines codées par le gène du lymphome à cellules B 2 (*BCL2*) qui ont une action régulatrice pro- ou anti-apoptotique (51).

La cellule cancéreuse acquiert un phénotype qui lui confère une résistance à l'apoptose, à travers plusieurs mécanismes : mutation du gène suppresseur de tumeur *TP53*, surexpression des oncogènes *BCL2* et *MYC* qui va augmenter la quantité de régulateurs anti-apoptotiques, la sous-expression des facteurs de survie et des régulateurs pro-apoptotiques, ou encore l'expression d'un analogue du récepteur Fas (55–57).

1.1.1.4 Potentiel de réplication illimité

Les cellules saines sont soumises à un nombre de divisions limité. Ce phénomène est lié à l'attrition progressive des séquences d'ADN télomériques au cours des réplifications (58,59). Lorsque leurs extrémités atteignent une limite d'érosion donnée, la cellule entre en crise télomérique (60). Les chromosomes peuvent fusionner, générant des désordres caryotypiques qui conduisent la cellule à entrer en sénescence dite répllicative ou en apoptose. La sénescence répllicative est une horloge biologique intrinsèque, indépendante de la sénescence cellulaire induite par des signaux hétérotypiques.

Les cellules tumorales ont la capacité d'échapper à cette dégénérescence programmée en exprimant la télomérase ou par des recombinaisons inter-chromosomiques au niveau des télomères (61,62). Ces deux mécanismes permettent le maintien de la longueur des extrémités chromosomiques et le potentiel de réplication devient illimité. Ce patrimoine génétique est ensuite transmis aux cellules filles qui sont alors immortalisées d'emblée. Par ailleurs, des études ont permis d'observer que l'expression de la télomérase est retardée dans certains types de tumeurs (63). Ces cellules ont donc le temps d'acquérir des aberrations chromosomiques qui seront consolidées à la suite de l'expression de la télomérase et seront transmises à leur descendance. Ces aberrations génomiques peuvent notamment induire l'apparition d'oncogènes mutants ou la perte de gènes suppresseurs de tumeurs qui favoriseront l'oncogenèse.

1.1.1.5 Angiogenèse continue

Les vaisseaux sanguins présents au sein du parenchyme transportent des substances nutritives et de l'oxygène, nécessaires au fonctionnement de la machinerie cellulaire. Cependant, les capacités prolifératives de la cellule cancéreuse requièrent un apport en nutriments considérablement plus élevé, et l'augmentation de la masse tumorale engendrerait nécessairement l'éloignement des cellules du système vasculaire. Pour compenser cette problématique, les cellules tumorales acquièrent la capacité de stimuler l'angiogenèse afin de créer de nouveaux capillaires qui pourront envahir la masse tumorale au fur et à mesure de son invasion tissulaire (64). Bien que principalement nécessaire aux tumeurs avancées, cette néovascularisation commence à se développer à un stade précoce de l'oncogenèse (65).

L'angiogenèse est un processus qui repose sur l'équilibre entre l'action de facteurs pro- et anti-angiogéniques. Les cellules néoplasiques sont en mesure de stimuler la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques comme le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) ou le facteur de croissance des fibroblastes (66). Ces facteurs sont les ligands de récepteurs à tyrosines kinases exprimés à la surface des cellules endothéliales. Plusieurs mécanismes peuvent conduire à cette surexpression, notamment l'altération de l'oncogène *RAS*, ou l'altération du gène suppresseur de tumeur *Von-Hippel Lindau (VHL)* qui induit de l'hypoxie. Les cellules de l'immunité innée, en particulier les macrophages, ont un rôle dans la protection de la néovascularisation (67). Des mécanismes inhibiteurs sont également impliqués dans ce *switch* angiogénique : les cellules peuvent inhiber la sécrétion de

molécules angiostatiques et anti-angiogéniques, notamment *via* la mutation du *TP53*, ou synthétiser des enzymes qui vont contrôler la biodisponibilité intracellulaire des facteurs pro- et anti-angiogéniques (66,68,69).

1.1.1.6 Invasion tissulaire à distance

Cette caractéristique finale de la progression néoplasique est conditionnée par l'acquisition préliminaire des propriétés sus-décrites, ce qui explique la durée variable observée entre le développement de la tumeur primitive et le développement de métastases. Il n'y a pas d'ordre d'acquisition prédéterminé, et toutes ne sont pas nécessairement acquises. Toutefois, la prolifération cellulaire, la résistance à l'apoptose et l'angiogenèse accrue sont par définition indispensables.

Ensuite, les grandes étapes de la cascade métastatique sont globalement constantes : des cellules tumorales perdent leur adhésion au niveau du site primitif et intègrent la circulation sanguine et lymphatique par intravasation (70). Elles sont transportées au niveau d'un site secondaire, qu'elles vont infiltrer par extravasation. Elles colonisent ensuite ce nouveau site en formant d'abord des micrométastases, qui pourront évoluer en tumeurs macroscopiques.

Les mécanismes impliqués dans la cascade métastatique sont, eux, variables et nombreux. La transition épithélio-mésenchymateuse est principalement à l'origine de la perte d'adhésion cellulaire (71). La tumeur est capable d'induire ce phénomène physiologiquement observé lors de l'embryogenèse et développer un phénotype favorable à l'invasion : dérégulation de l'expression de molécules impliquées dans les jonctions intercellulaires, inhibition de l'expression des gènes responsables de l'inhibition de contact, expression d'enzymes dégradant la matrice cellulaire, et augmentation de la motilité (72–75). De plus, l'oncogène *RAS* et le $TGF\beta$, paradoxalement à son action anti-proliférative, sont impliqués dans l'activation de la transition épithélio-mésenchymateuse (76). Les autres étapes du processus d'invasion et de colonisation sont grandement dépendantes du microenvironnement présent au niveau du site secondaire, constat initialement décrit par Stephen Paget en 1889 dans sa théorie de la graine et du sol (77). On notera en particulier l'action anti-tumorale exercée par le système immunitaire, afin de réprimer le passage des micrométastases à un stade macroscopique : il s'agit d'un état de veille dit dormance tumorale que l'on décrira plus loin (78).

1.1.2 Les capacités émergentes et propriétés favorisant le développement tumoral

Deux nouvelles caractéristiques plus récemment décrites sont venues compléter l'arsenal des capacités acquises par la cellule tumorale lors de l'oncogenèse (Figure 2) (14). Des propriétés liées à l'hôte et au microenvironnement ont également été associées au développement de la cellule cancéreuse.

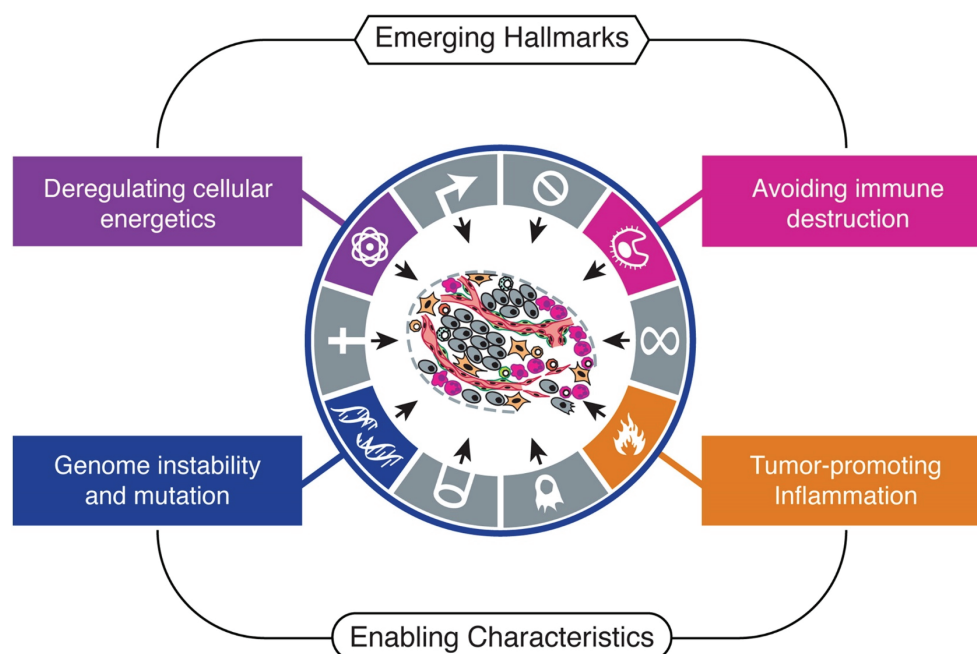


Figure 2 : Propriétés émergentes et caractéristiques favorisant l'oncogenèse. Ces propriétés et caractéristiques plus récemment décrites sont venues compléter celles déjà établies (en gris), et représentées sur la figure 1. Reproduction autorisée, d'après Hanahan et Weinberg (14).

1.1.2.1 Les propriétés du microenvironnement tumoral favorisant l'oncogenèse

1.1.2.1.1 Instabilité génomique

Il est admis aujourd'hui que l'existence de mutations d'oncogènes ou de gènes suppresseurs de tumeurs constitue un point commun à la plupart des propriétés acquises de la cellule tumorale, et à la plupart des cancers.

L'acquisition d'un génome instable est favorisée par des facteurs exogènes (rayons ultraviolets, agents alkylants, tabagisme...) ou endogènes, comme les divisions multiples auxquelles sont soumises les cellules tumorales et qui multiplie le risque de développer une mutation ponctuelle. Dans les cancers sporadiques, certains génotypes permettent de sélectionner les clones mutés (notamment ceux impliquant une mutation du gène suppresseur de tumeur *TP53*, de la télomérase, ou d'autres oncogènes) au détriment des clones non mutés (79). Cette sélection permet l'expansion clonale et contribue à induire

d'autres dommages génomiques favorables à la progression du cancer. Les cancers héréditaires se caractérisent souvent par l'instabilité microsatellitaire ou chromosomique, induite par l'altération des gènes impliqués dans le processus de réparation de l'ADN (80). Les éléments constitutifs de l'instabilité du génome sont aujourd'hui reconnus comme biomarqueurs pronostiques mais aussi prédictifs, à travers notamment la charge mutationnelle des tumeurs. Ces éléments seront détaillés dans le chapitre 2.2 dédié aux biomarqueurs génétiques.

1.1.2.1.2 Inflammation favorisant l'oncogenèse

L'inflammation du microenvironnement tumoral a été mise en évidence grâce à l'observation de nombreuses similitudes entre le processus de cicatrisation normale des blessures et la constitution du stroma tumoral (81). Peu de différences ont été identifiées, si bien que la tumeur correspondrait finalement à une blessure qui ne cicatrise jamais, traduisant un état inflammatoire chronique. Bien qu'il ait été reconnu au XIX^{ème} siècle par Rudolf Virchow que les cellules du système immunitaire contribuaient à lutter contre la tumeur en l'infiltrant, la découverte de l'inflammation soutenue dans l'environnement tumoral a permis de reconnaître l'existence des effets délétères du système immunitaire, à l'instar de ceux observés dans les maladies chroniques : fibrose, angiogenèse accrue et développement néoplasique (82). La création d'un environnement inflammatoire peut donc servir de base au développement des autres propriétés décrites dans ce chapitre. De ce fait, la dualité du rôle du système immunitaire et de l'inflammation dans la promotion ou dans la régression de l'oncogenèse constitue aujourd'hui une caractéristique non pas de la tumeur elle-même mais de son environnement et de l'hôte à considérer dans l'approche thérapeutique du cancer. Ceci peut notamment être illustré dans le cadre de traitements par des thérapies non ciblées, comme les chimiothérapies ou la radiothérapie. Ces thérapies agissent indifféremment sur les cellules tumorales et les cellules saines de l'organisme et contribuent à engendrer une inflammation, facilitant ainsi la progression tumorale et donc l'échec du traitement. Le détail des mécanismes intervenant dans cette inflammation sera traité dans le chapitre 2.3.2, où l'on mettra en évidence leur rôle potentiel de biomarqueur prédictif.

1.1.2.2 Modulation du métabolisme énergétique cellulaire

L'anomalie métabolique présente dans les cellules cancéreuses a été identifiée dans les années 1920 par Otto Warburg (83,84). Les cellules tumorales parviennent à modifier leur métabolisme énergétique afin de privilégier la glycolyse, même en condition d'aérobic. Cette adaptation leur permettrait donc de subvenir à leurs besoins énergétiques dans des milieux hypoxiques, situation parfois rencontrée avec l'éloignement des cellules tumorales des vaisseaux sanguins lors de proliférations cellulaires particulièrement rapides. Plusieurs hypothèses ont été émises afin de justifier l'agressivité observée des tumeurs en présence d'hypoxie (85). L'une d'entre elles serait que la glycolyse permettrait de produire des nucléosides et des acides aminés réutilisables dans la biosynthèse de nouvelles cellules tumorales (86).

Les études sur l'implication des oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs dans l'oncogenèse ont permis d'associer ce qu'on appelle aujourd'hui l'effet Warburg à l'altération de ces gènes. Dans le carcinome à cellules rénales (CCR), la perte d'expression du gène suppresseur de tumeur *VHL* conduit à l'accumulation des facteurs de transcription induits par l'hypoxie, HIF-1 α et HIF-2 α (87–89). Les HIF- α sont des facteurs de transcription du gène *VEGF*, ce qui confère aux CCR des capacités angiogéniques particulièrement accrues (90). Ils ciblent également de nombreux gènes codants pour des protéines impliqués dans le métabolisme du glucose, les métalloprotéases à l'origine de la matrice extracellulaire ou encore pour la E-cadhérine responsable de la transition épithélio-mésenchymateuse (91–93). D'autres protéines sont finalement influencées par l'accumulation des HIF- α . Ces facteurs constituent des éléments clés de la prolifération, de la migration, du métabolisme et de la survie des cellules tumorales lorsqu'ils sont dérégulés.

1.1.2.3 Echappement au contrôle du système immunitaire

La capacité des cellules cancéreuses à échapper à la surveillance du système immunitaire constitue la dernière caractéristique recensée (14,94). Cette propriété fera l'objet du chapitre suivant.

D'une manière générale, l'ensemble des propriétés acquises par la cellule tumorale impliquent des facteurs communs, en particulier la mutation d'oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs. Il est cependant difficile de déterminer un point de départ à l'initiation de l'oncogenèse, les différentes propriétés se recoupant à plusieurs niveaux. Les

mécanismes et facteurs à l'origine de ces phénotypes particuliers continuent d'être affinés et découverts, permettant de développer de traitements ciblés sur ces points communs afin d'agir simultanément à plusieurs niveaux de la progression néoplasique.

1.2 Système immunitaire et cellule cancéreuse : impacts respectifs

1.2.1 Concept de l'immunoédition : le système immunitaire contre le cancer

Le système immunitaire intervient dans la prévention anticancéreuse *via* trois niveaux de régulation. Deux sont liés à l'environnement tumoral : l'élimination des virus oncogènes responsables de tumeurs viro-induites et la suppression de l'inflammation ou de l'infection, qui constitueraient un environnement prédisposant et favorable à l'oncogenèse (81,95). Le troisième niveau de régulation correspond à l'identification et à l'élimination des cellules cancéreuses néoformées à un stade précoce. Cette hypothèse appelée immunosurveillance a été émise pour la première fois en 1909 par Paul Ehrlich puis reformulée dans les années 1950¹ (96–98).

Par définition, le cancer ne devrait donc pas pouvoir se développer chez les individus immunocompétents. L'assomption de l'existence manifeste d'un mécanisme d'échappement tumoral a donc été le rationnel de nombreuses études réalisées sur modèles murins (99–102). Ces recherches sont venues étayer le concept d'immunosurveillance initialement décrit, mettant en évidence l'implication du système immunitaire dans la modulation de l'immunogénicité des cellules cancéreuses. Détaillée pour la première fois en 2002, la théorie complète de l'immunoédition permet d'illustrer le processus d'immunité anti-tumorale et les moyens mis en œuvre par la cellule cancéreuse pour y échapper (101,103). Trois phases sont distinguées : l'élimination qui inclut en partie le concept d'immunosurveillance originel, l'équilibre, et l'échappement tumoral (94).

Ce concept sert de rationnel à la proposition de l'immunoévasion comme une propriété additionnelle acquise par la cellule néoplasique (14,101).

¹ Cette hypothèse a été formulée selon trois constats :

- les patients immunodéprimés suite à une transplantation développaient davantage de tumeurs que les patients immunocompétents,
- les patients ayant un cancer peuvent développer des réponses immunitaires innées et adaptatives spontanées,
- la présence de lymphocytes infiltrant la tumeur est un marqueur pronostique positif (94).

1.2.1.1 *L'élimination par l'immunosurveillance*

L'immunosurveillance effectuée par le système immunitaire a pour objectif de discriminer les cellules dites du soi des cellules externes à l'organisme (97). Ce processus permet également d'identifier et détruire les cellules du soi dysplasiques ou porteuses d'antigènes correspondant à un état pré-néoplasique, très immunogènes (94,103). Cette phase est un mécanisme suppresseur de tumeur externe et implique l'action des cellules de l'immunité innée et de l'immunité adaptative (94,99,101). Elle a été également décrite plus récemment par Daniel Chen et Ira Mellman sous le concept de cycle cancer-immunité (104).

L'invasion tissulaire et l'angiogenèse engendrent un remodelage du stroma tumoral responsable de la libération de signaux pro-inflammatoires par le milieu et de chimiokines par la cellule cancéreuse (94,101). Les cellules de l'immunité innée sont alors recrutées au niveau de la tumeur et une boucle de régulation positive se met en place, favorisant la sécrétion d'interferon gamma (IFN γ) par les lymphocytes T infiltrant la tumeur, aux propriétés anti-angiogéniques et pro-apoptotiques (94,99,101). L'amplification de l'immunité innée va ensuite conduire à l'apoptose des cellules tumorales, *via* la sécrétion d'IFN γ et l'activité des cellules tueuses naturelles (NK) (94,99,101,105). L'immunité adaptative est activée dans un second temps, suite au relargage d'antigènes tumoraux dans les débris apoptotiques, qui conduit à développer une réponse antigène dépendante. Les cellules T spécifiques de la tumeur vont notamment conduire les cellules tumorales restantes à l'apoptose, *via* des mécanismes directs et indirects. Si le système immunitaire parvient à éliminer l'ensemble des cellules cancéreuses, le processus d'immunoédition est constitué de cette seule étape d'immunosurveillance et d'élimination (104).

1.2.1.2 *L'équilibre*

Cette phase constitue un état stationnaire durant lequel les cellules tumorales ayant échappé à l'immunosurveillance n'ont pas de retentissement cliniquement détectable (78,94). Cette phase peut durer plusieurs années et explique le concept de dormance métastatique. L'immunité adaptative fait office de barrière au développement des cellules porteuses de signaux d'immunoévasion.

Toutefois, les cellules néoplasiques peuvent survivre grâce à leur instabilité génétique en développant des variants tumoraux moins immunogènes, non détectables. Les cellules ayant échappé à l'élimination finissent par être détruites tandis que seuls les variants

génétiques subsistent et se multiplient. Cette sélection darwinienne va à terme conduire à l'échappement tumoral.

1.2.1.3 L'échappement tumoral ou immunoévasion

Cette dernière phase correspond donc au renversement de l'équilibre, qui peut être médié par de nombreux mécanismes afin de contourner les deux versants, inné et acquis, de l'immunité (103). L'immunosélection correspond à la capacité des cellules à générer des mutations au niveau des antigènes impliqués dans la reconnaissance par le système immunitaire et dans l'activation de l'immunité adaptative (103,106). La cellule tumorale devient donc moins immunogène. Le deuxième processus est l'immunosubversion : il s'agit de l'induction de la tolérance *via* l'immunosuppression du système immunitaire par les cellules tumorales (107). Bien que la cellule tumorale ne soit plus reconnue par le système immunitaire, l'immunité reste cependant fonctionnelle pour reconnaître d'autres antigènes (108).

La suite de cette thèse sera focalisée sur l'immunosubversion. Il est nécessaire de maîtriser les mécanismes de réponse immunitaire et de tolérance effectués en situation physiologique afin de comprendre les moyens mis en œuvre par la cellule tumorale pour induire cette tolérance forcée.

1.2.2 Tolérance et échappement tumoral : le cancer contre le système immunitaire

1.2.2.1 Immunorégulation en situation physiologique

En situation physiologique, l'induction de la réponse immunitaire adaptative est médiée par les cellules T et repose sur la présence de deux types de signaux activateurs au sein de la synapse immunologique (109,110). Le premier signal fait suite à la reconnaissance par le récepteur de la cellule T (TCR) du peptide antigénique présenté par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), qui conduit à l'activation des cellules T naïves. Le second signal est antigène-indépendant, et implique l'interaction entre des récepteurs exprimés par les cellules T et des molécules présentes à la surface des cellules présentatrices d'antigènes. La protéine membranaire CD28 (Cluster de Différenciation 28) et ses ligands B7-1 et B7-2 sont les principaux acteurs de cette co-signalisation (111,112). La présence de ces deux signaux, dont un signal de co-stimulation antigène-indépendant positif, va conduire à l'expansion clonale des cellules T spécifiques de l'antigène, leur différenciation et la sécrétion de cytokines destinées à neutraliser la cellule cible (113).

A l'inverse, la tolérance permet notamment d'empêcher le développement de réactions auto-immunes envers les antigènes constitutifs du soi (114). La tolérance centrale repose sur l'élimination des lymphocytes T auto-réactifs dans le thymus, par un système de double sélection positive puis négative. La tolérance périphérique implique plusieurs mécanismes qui contribuent à l'élimination des cellules ayant échappé à la sélection centrale, en particulier les lymphocytes auto-réactifs dirigés contre des antigènes spécifiques d'un organe (115,116).

L'un de ces mécanismes consiste en la surexpression de protéines co-inhibitrices par les lymphocytes, qui permet de créer un signal additionnel de co-stimulation négative dans la synapse immunologique afin de contrecarrer la co-stimulation positive et limiter l'auto-immunité (117). Les protéines impliquées dans cette co-stimulation négative sont alors désignées sous le terme « point de contrôle immunitaire », et nous distinguerons en particulier dans cette thèse la protéine PD-1 et son ligand PD-L1.

1.2.2.2 Le signal PD-(L)1 dans le contrôle de l'auto-immunité

Le récepteur PD-1 (ou CD279) a été initialement identifié en 1992 dans le cadre de recherches portant sur les gènes impliqués dans la mort cellulaire programmée (11). Du fait de son analogie structurale avec la protéine CTLA-4, autre molécule co-inhibitrice de la famille de récepteurs CD28, la recherche de potentiels ligands s'est donc focalisée sur les protéines de la famille B7, permettant l'identification du ligand PD-L1 en 1999, puis du second ligand PD-L2 en 2001 (118–120). L'implication du récepteur PD-1 dans l'induction et le maintien de la tolérance a été révélée suite au développement de pathologies auto-immunes chez des modèles murins invalidés pour PD-1 (121,122).

En effet, l'engagement du récepteur de type *Toll* (TLR) avec un antigène conduit à la surexpression de PD-1 par les cellules T activées (123,124). Lors de la migration périphérique des cellules T auto-réactives, PD-1 interagit avec ses ligands, et en particulier PD-L1 qui possède un profil d'expression cellulaire très vaste, impliquant notamment de nombreux organes non lymphoïdes (119,125,126). Cet engagement constitue une co-signalisation négative qui conduit à l'inactivation des lymphocytes T et à la réduction de la production de cytokines, contribuant ainsi à protéger l'organe d'une réaction auto-immune.

1.2.2.3 Le signal PD-1 et PD-L1 dans l'échappement tumoral

L'analyse du profil d'expression des ligands, effectuée sur différentes séquences d'ADN et lignées cellulaires murines et humaines, a permis de révéler l'expression de PD-L1 par certains types de cellules tumorales (125).

Cette surexpression est rendue possible par deux mécanismes de résistance immunitaire (Figure 3) (127).

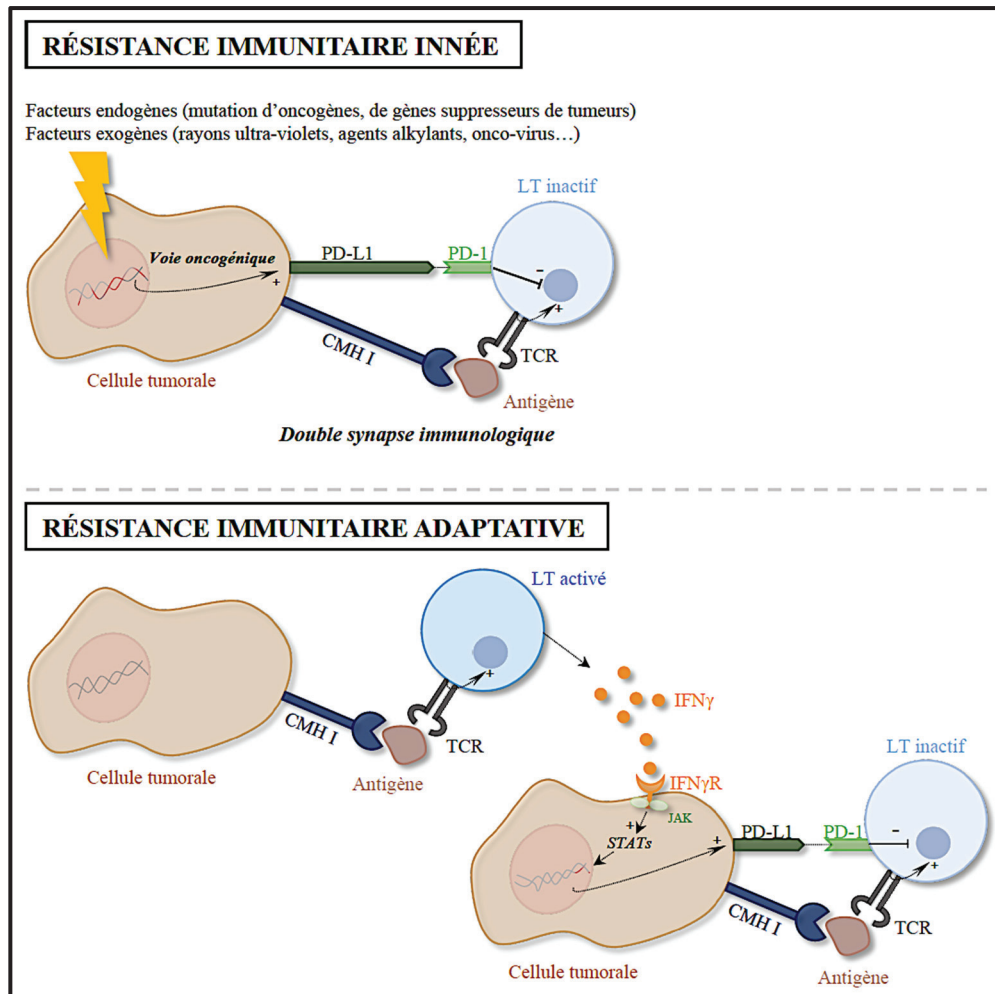


Figure 3 : PD-L1 dans l'immunoévasion de la cellule tumorale.
CMH I = complexe majeur d'histocompatibilité de type I ; IFN γ = interféron gamma ; IFN γ R = récepteur de l'IFN γ ; JAK = Janus kinase ; LT = lymphocyte T ; PD-1 = protéine 1 de mort cellulaire programmée de type 1 ; PD-L1 = ligand 1 du récepteur PD-1 ; STATs = facteurs transducteurs du signal et activateurs de la transcription ; TCR = récepteur de la cellule T.

La résistance immunitaire innée implique un profil mutationnel de la cellule tumorale se traduisant par l'expression naturelle du ligand (128,129). La résistance immunitaire adaptative se met en place secondairement à la sécrétion d'IFN γ et de cytokines inflammatoires dans la synapse immunologique suite à la réaction immunitaire innée

(108,130,131). PD-L1 est par ailleurs surexprimé par les cellules myéloïdes présentes dans le microenvironnement tumoral, ce qui contribue également à l'altération de la réponse médiée par les cellules T (132).

L'engagement du ligand avec son récepteur présent à la surface des lymphocytes T activés va conduire ensuite à l'inactivation des cellules T, à l'immunoévasion de la cellule tumorale et à la promotion de son développement.

Finalement, le taux d'expression de PD-L1 serait un indicateur d'agressivité de la tumeur, ce qui a conduit à considérer son expression comme cible thérapeutique (133). Des anticorps monoclonaux ont été utilisés afin de valider l'implication du signal PD-(L)1 dans la tolérance induite par le cancer (12). En présence de ces anticorps, une réduction significative de la croissance tumorale a été observée, suggérant l'intérêt d'utiliser les anticorps ciblant le récepteur ou le ligand dans la stratégie thérapeutique (134).

1.3 Inhibiteurs du récepteur PD-1 et du ligand PD-L1

Le terme immunothérapie englobe plusieurs stratégies, qui distinguent les approches passive et active.

L'immunothérapie passive est la forme la plus ancienne : il s'agit d'apporter au patient des anticorps monoclonaux recombinants dirigés contre les épitopes de la cellule cancéreuse (comme le rituximab, le trastuzumab, le cetuximab) ou d'utiliser des médiateurs immunitaires, comme les interférons (135).

L'immunothérapie active a son action ciblée sur le système immunitaire en place : l'objectif est de stimuler les cellules de l'immunité afin de restaurer la réponse immunitaire anti-tumorale. Les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire, qui incluent les anticorps dirigés contre PD-1, PD-L1 et CTLA-4, sont des stratégies d'immunothérapie active : ils contribuent à lever l'inhibition des cellules T induite par la tumeur (136).

1.3.1 Arsenal thérapeutique approuvé

Les anticorps anti-PD-1 et anti-PD-L1 actuellement approuvés sont indiqués dans le traitement de tumeurs solides ou en onco-hématologie, parfois combinés à d'autres molécules afin de bénéficier de la synergie des modes d'action complémentaires. Ces produits biologiques sont administrés par voie intraveineuse et possèdent le statut de « médicament sous surveillance renforcée » afin d'identifier rapidement de nouvelles données de sécurité.

1.3.1.1 Inhibiteurs du récepteur PD-1

L'arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-1 actuellement disponible en Europe comprend trois agents approuvés : nivolumab, commercialisé par Bristol-Myers-Squibb ; pembrolizumab, commercialisé par Merck Sharp and Dohme ; et cemiplimab, co-développé par Sanofi et Regeneron (Tableau 1).

1.3.1.2 Inhibiteurs du PD-L1

L'arsenal thérapeutique des anticorps anti-PD-L1 est composé de trois agents approuvés en Europe : atezolizumab, produit par le laboratoire Roche ; avelumab, commercialisé par Merck, et durvalumab, commercialisé par AstraZeneca (Tableau 2).

Tableau 1 : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-1 (état du 01/04/2020).

Anticorps monoclonal	Nom commercial	Détenteur de l'AMM	AMM EMA	<u>1ère indication</u> et extensions d'indication ultérieures approuvées en Europe chez l'adulte	Propriétés pharmacologiques
Nivolumab (137)	Opdivo®	Bristol Myers Squibb	2015	<p><u>Mélanome avancé ou métastatique non résecable :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - en monothérapie ; - combiné à l'ipilimumab (anticorps anti-CTLA4). <p>■ Mélanome avancé ou métastatique, en traitement adjuvant de la résection de la zone ganglionnaire impactée ou des métastases.</p> <p>■ Cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) avancé ou métastatique après une première ligne de chimiothérapie.</p> <p>■ Carcinome à cellules rénales avancé :</p> <ul style="list-style-type: none"> - en deuxième ligne de traitement ; - en combinaison à l'ipilimumab en première ligne de traitement chez les patients dits à pronostic intermédiaire ou défavorable. <p>■ Lymphome Hodgkinien, chez des patients ayant rechutés ou réfractaires à la transplantation de cellules souches autologues et au traitement par brentuximab vedotin.</p> <p>■ Carcinome épidermoïde de la tête et du cou récurrent ou métastatique après échec d'une chimiothérapie par sels de platine.</p> <p>■ Carcinome urothélial avancé non résecable ou métastatique après échec d'une chimiothérapie par sels de platine.</p>	<p><u>Structure chimique :</u></p> <p>Anticorps monoclonal humain de type IgG4.</p> <p><u>Mode d'action :</u></p> <p>Se lie au PD-1 et assure le blocage de son interaction avec les ligands PD-L1 et PD-L2.</p>

Tableau 1 (suite) : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-1 (état du 01/04/2020).

Anticorps monoclonal	Nom commercial	Détenteur de l'AMM	AMM EMA	1ère indication et extensions d'indications ultérieures approuvées en Europe chez l'adulte	Propriétés pharmacologiques
Pembrolizumab (138)	Keytruda®	Merck Sharp and Dohme (MSD)	2015	<p><u>Mélanome:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - en première intention dans le cadre d'un cancer avancé non résecable ou métastatique ; - en traitement adjuvant de la résection complète de la zone ganglionnaire impactée dans le cadre d'un mélanome de stade III. <p>▪ Lymphome Hodgkinien, après échec ou résistance à la greffe de cellules souches autologues et au traitement par brentuximab vedotin, ou chez des patients inéligibles à la greffe pour qui le traitement brentuximab vedotin n'a également pas fonctionné.</p> <p>▪ CBNPC :</p> <ul style="list-style-type: none"> - en première ligne de traitement de tumeurs sans mutation du gène de la kinase du lymphome anaplasique (<i>ALK</i>) ou du récepteur au facteur de croissance épidermique (<i>EGFR</i>) mais exprimant PD-L1 avec un score de proportion tumorale (TPS) $\geq 50\%$; - en deuxième ligne de traitement de tumeurs PD-L1 positives (TPS $\geq 1\%$) localement avancées ou métastatiques, après chimiothérapie pour les tumeurs sans mutation <i>ALK</i> ou <i>EGFR</i>, ou en troisième ligne de traitement après chimiothérapie et thérapie ciblée pour les tumeurs avec mutation <i>ALK</i> ou <i>EGFR</i> ; - associé à une chimiothérapie pemetrexed et cisplatine en première intention dans le cadre d'un CBNPC métastatique non épidermoïde sans mutation <i>ALK</i> ou <i>EGFR</i> ; - associé au carboplatine et paclitaxel ou nab-paclitaxel en première ligne de traitement du CBNPC épidermoïde métastatique. <p>▪ Carcinome urothélial localement avancé ou métastatique :</p> <ul style="list-style-type: none"> - après échec d'une chimiothérapie par sels de platine ; - en première intention pour des tumeurs exprimant PD-L1 avec un score positif combiné (CPS) ≥ 10 chez des patients ne pouvant être traités par cisplatine. <p>▪ Carcinome épidermoïde de la tête et du cou métastatique ou en récidive :</p> <ul style="list-style-type: none"> - avec un TPS $\geq 50\%$ pour PD-L1, après échec d'une chimiothérapie par sels de platine ; - en première ligne de traitement des tumeurs non résecables exprimant PD-L1 avec un CPS ≥ 1, en monothérapie ou combiné à la chimiothérapie par sel de platine et 5-fluorouracile. <p>▪ Carcinome à cellules rénales avancé ou métastatique, en première ligne de traitement associé à l'axitinib, inhibiteur à tyrosine kinase du récepteur au VEGF (VEGFR).</p>	<p><u>Structure chimique:</u> Anticorps monoclonal humanisé de type IgG4.</p> <p><u>Mode d'action:</u> Se lie au PD-1 et assure le blocage de son interaction avec les ligands PD-L1 et PD-L2.</p>

Tableau 1 (suite et fin) : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-1 (état du 01/04/2020).

Anticorps monoclonal	Nom commercial	Détenteur de l'AMM	AMM EMA	1ère indication et extensions d'indication ultérieures approuvées en Europe chez l'adulte	Propriétés pharmacologiques
Cemiplimab (139)	Libtayo®	Regeneron Ireland	2019	<p><i>AMM conditionnelle</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Carcinome cutané à cellules squameuses, localement avancé ou métastatique non éligible à la chirurgie curative ni à la radiothérapie curative. 	<p><u>Structure chimique :</u> Anticorps monoclonal humain de type IgG4.</p> <p><u>Mode d'action :</u> Se lie au PD-1 et assure le blocage de son interaction avec les ligands PD-L1 et PD-L2.</p>

Tableau 2 : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-L1 (état du 01/04/2020).

Anticorps monoclonal	Nom commercial	Détenteur de l'AMM	AMM EMA	1 ^{ère} indication et extensions d'indication ultérieures approuvées en Europe chez l'adulte	Propriétés pharmacologiques
Atezolizumab (140)	Tecentriq®	Roche	2017	<p><u>Carcinome urothélial avancé ou métastatique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>en deuxième intention après échec d'un traitement par sels de platine ;</u> - <u>en première intention chez les patients inéligibles au traitement par sels de platine dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un TPS ≥ 5%.</u> <p>▪ CBNPC avancé ou métastatique dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un TPS ≥ 1% :</p> <ul style="list-style-type: none"> - après une première ligne par chimiothérapie pour les tumeurs sans mutation <i>ALK</i> ou <i>EGFR</i> ; - en troisième ligne de traitement après chimiothérapie et thérapie ciblée dans le cadre de tumeurs avec mutation <i>ALK</i> ou <i>EGFR</i>. <p>▪ Cancer du sein triple négatif avancé non résecable ou métastatique, en combinaison au nab-paclitaxel, pour des tumeurs exprimant PD-L1 avec un TPS ≥ 1% et qui n'ont pas reçu de chimiothérapie pour le stade métastatique.</p>	<p><u>Structure chimique :</u> Anticorps monoclonal humanisé de type IgG1 avec fragment Fc modifié.</p> <p><u>Mode d'action :</u> Se lie au PD-L1 et assure le blocage de la liaison avec les récepteurs PD-1 et B7.1. N'a pas d'action sur l'interaction PD-L2/PD-1. N'induit pas de CCDA.</p>
Avelumab (141)	Bavencio®	Merck Serono	2017	<p><i>AMM conditionnelle</i></p> <p>▪ <u>Carcinome cutané à cellules de Merkel métastatique, en monothérapie.</u></p> <p>▪ Carcinome à cellules rénales avancé ou métastatique, en première ligne de traitement associé à l'axitinib.</p>	<p><u>Structure chimique :</u> Anticorps monoclonal humain de type IgG1.</p> <p><u>Mode d'action :</u> Se lie au PD-L1 et assure le blocage de la liaison avec les récepteurs PD-1 et B7.1. Induit une CCDA qui conduit à la lyse des cellules tumorales par les cellules NK.</p>

Tableau 2 (suite et fin) : Arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-L1 (état du 01/04/2020).

Anticorps monoclonal	Nom commercial	Détenteur de l'AMM	AMM EMA	1 ^{ère} indication et extensions d'indication ultérieures approuvées en Europe chez l'adulte	Propriétés pharmacologiques
Durvalumab (142)	Imfinzi®	AstraZeneca	2018	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <u>CBNPC avancé et non résecable, en deuxième ligne chez les patients avant un TPS $\geq 1\%$ pour PD-L1 n'avant pas progressé à l'issue d'une première ligne de radio-chimiothérapie par sels de platine.</u> 	<p><u>Structure chimique :</u> Anticorps monoclonal humanisé de type IgG1 kappa avec fragment Fc modifié.</p> <p><u>Mode d'action :</u> Se lie au PD-L1 et assure le blocage de la liaison avec les récepteurs PD-1 et B7.1. N'induit pas de CCDA.</p>

1.3.1.3 *Caractéristiques structurales et activité clinique*

1.3.1.3.1 Choix des immunoglobulines

Les inhibiteurs du PD-1 et du PD-L1 actuellement sur le marché sont des anticorps monoclonaux immunoglobuline de type G1 (IgG1) pour les inhibiteurs du PD-L1 et IgG4 pour les inhibiteurs du PD-1. D'un point de vue structurel, les quatre isotypes des IgG humaines naturelles sont homologues à 90% (143). La différence d'activité réside dans la structure de la région charnière et du domaine 2 de la chaîne lourde (C_H2), qui induit une variation de l'affinité de la liaison aux différents récepteurs du fragment constant γ (Fc γ Rs) présents sur les cellules cibles.

Les IgG1 sont celles ayant la plus haute affinité pour les Fc γ Rs, en particulier les récepteurs dits activateurs de type I, IIa et IIIa, et le sous-composant complémentaire C1q de la voie classique du complément (144). Elles présentent de ce fait des fonctions effectrices importantes, qui peuvent impliquer une cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (CCDA), une cytotoxicité dépendante du complément (CDC) ou encore une phagocytose dépendante des anticorps. Les IgG1 thérapeutiques sont particulièrement utilisées dans le cadre d'immunothérapies, pour constituer les inhibiteurs du PD-L1. Elles contribuent à bloquer l'interaction du ligand avec PD-1 et induire la destruction directe de la cellule tumorale et des cellules myéloïdes suppressives (MDSC) par leurs fonctions effectrices.

Les IgG4 thérapeutiques sont souvent considérées comme des anticorps non activateurs compte tenu de leurs fonctions effectrices faibles. Ces immunoglobulines, qu'elles soient naturelles ou thérapeutiques, ont une affinité équivalente aux IgG1 pour le Fc γ R I, mais une affinité très basse pour les récepteurs II et IIIa, et n'ont pas d'affinité pour le C1q. Ces immunoglobulines ont souvent été choisies pour supporter le développement des inhibiteurs du PD-1. Plusieurs études ont démontré d'une part que les inhibiteurs du PD-1 ont une action indépendante du Fc γ R mais également que l'engagement du Fc γ R I induirait une CCDA dirigée sur les lymphocytes T CD8⁺ (145,146). Cette action aurait un effet délétère sur l'efficacité anti-tumorale de l'agent thérapeutique, tout comme l'engagement du Fc γ R IIb inhibiteur. Certains cas d'hyper-progression de tumeurs suite à l'inhibition du PD-1 ont été associées à la présence de macrophages Fc γ R I⁺ responsables de la phagocytose des lymphocytes T CD8⁺ (147,148). Ce phénomène paradoxal consiste en une progression

accélérée et donc inattendue de la maladie suite à l'initiation de l'immunothérapie. Le développement d'immunoglobulines permettant le seul blocage du PD-1 et une action réduite sur les FcγRs est donc nécessaire à l'activité optimale anti-tumorale (145). Plusieurs inhibiteurs du PD-1 expérimentaux produits avec des isotypes d'immunoglobulines de souris différents (IgG2A, IgG1, IgG4) ont été comparés. Il en résulte que l'IgG4 serait l'isotype le plus adéquat en comparaison à d'autres isotypes modifiés pour rendre la liaison du fragment constant (Fc) au FcγRs invalide, bien que l'IgG4 possède une forte affinité pour le FcγR I et une affinité faible mais existante pour le FcγR IIb inhibiteur. Les IgG4 se distinguent également des IgG1 par la présence d'une sérine en position 228 au lieu d'une proline dans la région charnière. Cette substitution d'acides aminés engendre un motif Cystéine-Proline-Sérine-Cystéine, qui permet le rapprochement des deux cystéines en position 226 et 229 et entraîne la création de ponts disulfures intra-chaîne (149). Cette caractéristique permet aux IgG4 de se dissocier *in vivo* pour former deux isomères hémimimmunoglobulines, qui pourront se recombinaison avec d'autres hémimimmunoglobulines et former des anticorps monovalents bispécifiques. Ce procédé appelé *Fragment antigen-binding (Fab) exchange arm* n'est pas souhaitable dans le cas d'anticorps thérapeutiques, qui pourraient donc se recombinaison avec des immunoglobulines naturelles et perdre leur efficacité (150). Les IgG4 thérapeutiques qui forment les inhibiteurs du PD-1 sont donc porteuses d'une mutation S228P et possèdent le même motif Cystéine-Proline-Proline-Cystéine que les IgG1 afin de prévenir ces recombinaisons non souhaitées.

Le choix d'une immunoglobuline se base également sur son aspect pratique en termes de développement et de procédés de production. Les IgG1 peuvent lier les FcγRs humains mais aussi murins, ce qui facilite son évaluation pré-clinique (151). Elles ont également une demi-vie sérique prolongée en liant le récepteur du Fc néonatal, qui les protège donc de la dégradation. La production des IgG1 et IgG4 est transposable à grande échelle, permettant une transfection d'ADN recombinant dans des cellules ovariennes de hamster chinois et une purification sur colonne de protéines A. Ces immunoglobulines possèdent une bonne stabilité qui permet le stockage, et la mutation S228P nécessaire sur les IgG4 est également aisément réalisable.

1.3.1.3.2 Activité clinique

Le fonctionnement fondamental des inhibiteurs du signal PD-(L)1 s'appuie sur le concept de la normalisation immunitaire qui inclut trois grands principes (152,153). La modulation de l'échappement immunitaire induit par la tumeur consiste à cibler directement PD-1 ou PD-L1 exprimés par la cellule tumorale ou les cellules T. La modulation sélective de la réaction immunitaire dans le microenvironnement contribue à induire sélectivement les cellules co-activatrices de la réponse immunitaire et à inhiber les cellules immunosuppressives dans le microenvironnement tumoral, tout en préservant l'équilibre immunitaire dans les tissus sains. Enfin, le dernier principe correspond à la restauration finale de l'immunité anti-tumorale, en fournissant un support à l'immunité anti-tumorale sous-jacente pour combattre le cancer en phase de progression.

La différence d'activité entre les anticorps anti-PD-1 et anti-PD-L1, mais également entre les différents agents au sein d'une même famille, repose d'une part sur la protéine cible et son profil d'expression différentiel et en partie sur le Fc de l'immunoglobuline qui ciblera ou non le FcγR (Figure 4). Les anticorps anti-PD-1 restaurent la cytotoxicité des lymphocytes T effecteurs épuisés en ciblant le récepteur du PD-1 à leur surface avec leur domaine variable (154). Les récepteurs PD-1 présents sur les lymphocytes ont également pour vocation d'induire une immunosuppression en se liant aux ligands exprimés par les MDSC. L'inhibition thérapeutique du récepteur contribue donc à lever cette immunosuppression et renverser ses conséquences : diminution des lymphocytes T régulateurs (Treg), augmentation de l'infiltration lymphocytaire, création d'un environnement inflammatoire, restauration de la cytotoxicité... Le choix d'une structure d'IgG4 implique des effets effecteurs médiés par les FcγRs réduits, bien que des réactions croisées de type CCDA entre les macrophages FcγRI⁺ et les lymphocytes T soient envisageables (145).

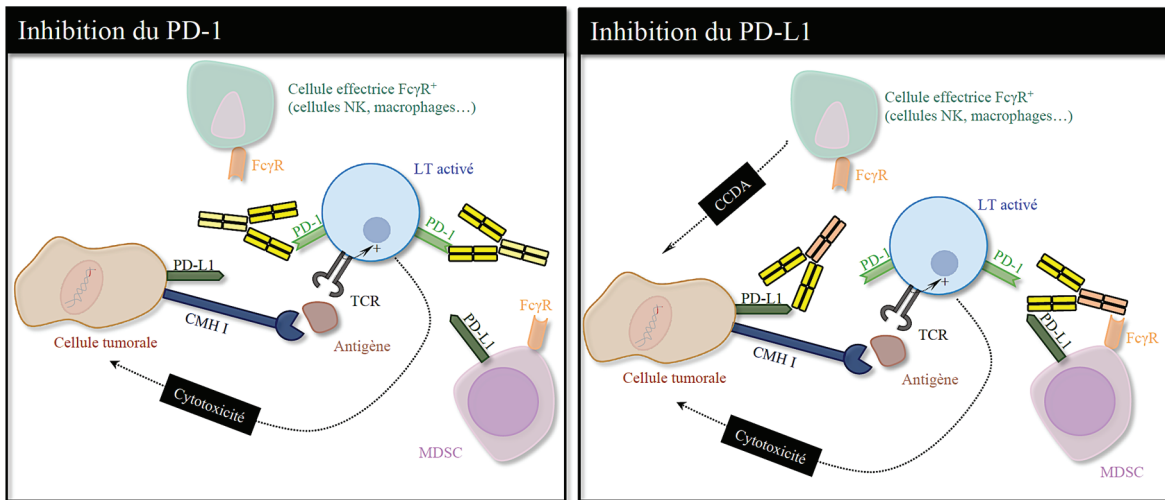


Figure 4 : Mécanisme d'action des inhibiteurs du PD-1 et du PD-L1.

CCDA = cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps ; CMH I = complexe majeur d'histocompatibilité de type I ; FcγR = récepteur gamma du fragment constant ; LT = lymphocyte T ; MDSC = cellules myéloïdes suppressives ; NK = cellule tueuse naturelle ; PD-1 = protéine 1 de mort cellulaire programmée de type 1 ; PD-L1 = ligand 1 du récepteur PD-1 ; TCR = récepteur de la cellule T.

L'activité des inhibiteurs du PD-L1 est plus complexe. En théorie, ils ciblent le ligand exprimé par les cellules tumorales et les cellules présentatrices d'antigènes, ce qui restaure la cytotoxicité et lève l'immunosuppression, à l'instar des inhibiteurs du PD-1. Cette activité est potentialisée par la liaison du Fc activateur de l'immunoglobuline aux récepteurs FcγRs exprimés par les cellules effectrices FcγRs⁺, qui comprennent notamment les macrophages, les cellules NK et plus généralement les MDSC (143). Cette action induit donc une CCDA qui va contribuer à la destruction des cellules tumorales et des MDSC (145). On observe également des CDC induites par la liaison au C1q. En pratique, certaines immunoglobulines thérapeutiques ont été modifiées par génie génétique afin de ne pas induire de mécanismes CCDA et CDC, qui pourraient se diriger vers des cellules saines prises pour cible à cause de leur expression naturelle du PD-L1. Ces modifications permettent donc de limiter le profil de toxicité de ces agents. Pour cela, une mutation N298A a été induite dans chaque domaine C_{H2} du Fc de l'atezolizumab, ce qui rend impossible la N-glycosylation et donc la liaison aux FcγRs (155). Durvalumab est porteur d'une triple mutation sur chaque chaîne lourde : L238F, L239E, P235S (142). Avelumab est donc l'unique inhibiteur du PD-L1 disponible à ce jour dont le fragment Fc n'est pas modifié (156).

1.3.2 Données d'efficacité et intérêt d'un biomarqueur prédictif sensible et spécifique

1.3.2.1 Place dans la stratégie thérapeutique

L'arsenal thérapeutique des inhibiteurs du PD-1 ou du PD-L1 est en phase d'expansion, au regard des résultats d'efficacité significatifs démontrés lors des essais cliniques et pour de nombreux types de cancers. Le premier approuvé, nivolumab, testé dans l'étude CheckMate 066 en 2015, avait montré une significativité considérable sur son critère de jugement principal, la survie globale, avec un risque de décès 52% plus bas chez les patients du groupe expérimental atteints d'un mélanome avancé ou métastatique non opérable, sans mutation du *v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (BRAF)*, en première ligne de traitement (157). Comparés à la chimiothérapie dans la plupart des études pivot ayant conduit à la première approbation, les anticorps anti-PD-1 ou PD-L1 ont également démontré leur efficacité en monothérapie contre d'autres traitements dits de thérapie ciblée, ou encore combinés. Dans l'étude KEYNOTE 006 publiée en 2015 et 2017, pembrolizumab avait montré une efficacité supérieure de 40% en survie globale ainsi qu'un profil de toxicité mieux toléré, en comparaison à l'inhibiteur du point de contrôle immunitaire CTLA-4 ipilimumab alors traitement standard recommandé pour le mélanome avancé (158,159). De nombreuses études évaluant nivolumab associé à ipilimumab ont été ou sont en cours d'évaluation dans plusieurs indications, notamment dans le carcinome rénal à cellules claires où la stratégie a été approuvée. Comparée au traitement standard à base de sunitinib (inhibiteur à tyrosine kinase du VEGFR) dans l'étude CheckMate 214, la combinaison d'immunothérapies est depuis recommandée par les experts comme traitement standard en première intention chez les patients des groupes pronostiques intermédiaire ou mauvais (160). Enfin, avelumab combiné à axitinib dans le traitement du carcinome rénal à cellules claires permet d'augmenter le bénéfice clinique en associant deux mécanismes d'action complémentaires afin de limiter les résistances observées avec les agents anti-angiogéniques seuls. Cette association permet également de bénéficier des effets immunomodulateurs de l'inhibiteur du VEGFR, synergiques avec ceux de l'immunothérapie (161,162).

Les immunothérapies par anticorps anti-PD-1 ou anti-PD-L1 font à présent partie de la stratégie thérapeutique recommandée par les experts pour de nombreuses indications.

1.3.2.2 Identification d'un premier biomarqueur prédictif potentiel de la réponse au traitement et observation de phénomènes de résistance au traitement

Logiquement, le taux d'expression du PD-L1 par la tumeur a été d'emblée considéré comme un marqueur prédictif potentiel de la réponse au traitement. Les premières évaluations permettant sa validation ont été initiées en parallèle des premiers essais cliniques réalisés notamment lors du développement du nivolumab (163,164). La mesure de l'expression du PD-L1 a donc été considérée assez tôt dans le développement des immunothérapies et faisait principalement l'objet d'analyses en sous-groupes, ou était parfois utilisée comme critère de sélection dans certains essais cliniques. L'expression du PD-L1 était alors évaluée à travers le score de proportion tumorale (TPS ou *tumor proportion score*). Les données des études mentionnées ci-dessous seront synthétisées dans le Tableau 3. Ces études et les données précisées, pour la plupart exploratoires, ne sont pas exhaustives mais illustrent l'importance de définir un seuil de positivité pour le TPS du PD-L1 dans l'évaluation de l'efficacité du traitement et dans la prise en compte de mécanismes de résistance thérapeutique.

Dans l'étude KEYNOTE 001, un essai de phase précoce réalisé sur plusieurs tumeurs solides dont le CBNPC avancé, une analyse en sous groupes compare les réponses objectives observées avec plusieurs seuils de TPS de PD-L1 (165). 30 à 45% des patients avec un TPS de 50% ou plus présentaient une réponse objective, contre 12 à 20% des patients avec un TPS compris entre 1 et 49%, et 8% des patients n'exprimant pas PD-L1. Les données de survie sans progression et survie globale valorisaient également l'efficacité de pembrolizumab chez les patients avec un TPS de 50% et suggèrent l'utilisation de ce critère comme biomarqueur prédictif dans les études suivantes.

Pourtant, tous les patients prédits comme répondeurs au traitement au regard de leur niveau d'expression du PD-L1 ne semblent pas tirer bénéfice de l'immunothérapie. En 2016 dans l'étude KEYNOTE 024, pembrolizumab avait été comparé à la chimiothérapie chez des patients atteints de CBNPC dont au moins la moitié des cellules tumorales exprimaient PD-L1 (166,167). L'anticorps anti-PD-1 avait permis un bénéfice de survie sans progression de 50% et un bénéfice de survie globale de 63% confirmé dans l'analyse finale publiée en 2019. Le TPS d'au moins 50% est à présent mentionné comme prérequis pour cette indication dans l'autorisation de mise sur le marché (AMM). Pourtant, seuls 45% des

patients du groupe expérimental avaient présenté une réponse objective lors de l'analyse intermédiaire.

En octobre 2019, une étude rétrospective a été publiée par la Société Européenne d'Oncologie Médicale (ESMO) et évalue l'impact du TPS du PD-L1 sur l'efficacité de pembrolizumab chez des patients atteints de CBNPC (168). 45% des patients de la cohorte ont présenté une réponse objective complète ou partielle, résultats comparables à ceux observés dans l'étude KEYNOTE 024 citée précédemment. La médiane d'expression du PD-L1 chez ces patients répondeurs était de 90%. Une analyse de l'efficacité a donc été réalisée en comparant les patients exprimant PD-L1 à 90% ou plus, et ceux ayant un TPS compris entre 50% et 89%. 60% des patients dont 90 à 100% des cellules tumorales exprimaient PD-L1 ont présenté une réponse objective, contre 33% des patients de l'autre groupe. Ces résultats suggèrent que seul un taux d'expression très élevé de PD-L1 pourrait constituer un marqueur prédictif de l'efficacité du traitement. Les auteurs estiment par ailleurs que les bénéfices d'efficacité obtenus pour des TPS à partir de 1% dans d'autres essais seraient probablement portés par la population de patients possédant de très hauts niveaux d'expression du PD-L1, comme dans l'étude KEYNOTE 042 évaluant pembrolizumab en première ligne de traitement du CBNPC avec un TPS d'au moins 1% (169). Cette étude a par ailleurs modifié ses critères de jugement afin de prendre en compte trois groupes de patients selon leur TPS (supérieur ou égal à 1%, à 20% et à 50%). Les résultats montrent que les taux de réponse et l'efficacité observés chez les patients avec un TPS d'au moins 1% sont plus modérés que ceux obtenus dans la population de patient avec un TPS supérieur ou égal à 50%. Finalement, parmi les patients exprimant PD-L1 à 90% ou plus sélectionnés dans l'étude rétrospective académique de l'ESMO, 40% n'ont pas répondu au traitement, mettant en évidence une fois de plus l'existence d'un sous-groupe de patients résistants d'emblée au traitement (168).

De plus, là où les phases précoces prévoient une efficacité à long terme, les essais cliniques ont démontré que certains patients, qui présentaient des réponses objectives initiales, étaient victimes de la progression de leur maladie en cours de traitement, suggérant l'existence d'un phénomène de résistance tardive. La cohorte mélanome de l'étude KEYNOTE 001 permet d'illustrer ce phénomène : 44% des patients répondeurs ont présenté une réponse durable de plus de 1 an, soit environ la moitié des patients initialement répondeurs ayant subi dans l'année de leur traitement une progression de leur maladie (170).

Le phénomène inverse a également été observé : dans l'étude CheckMate 067, testant nivolumab seul ou combiné à ipilimumab dans le mélanome, le TPS a été considéré comme positif à partir de 5% (171). 55% des patients prédits non-répondeurs, donc ayant par définition entre 0 à 4,9% des cellules tumorales exprimant PD-L1, ont présenté une réponse objective avec la combinaison et 41% avec nivolumab en monothérapie. Bien que ces données fassent partie d'une analyse en sous-groupes secondaire, il apparaît que le seul niveau d'expression du PD-L1 ne constitue pas un marqueur universel de la réponse au traitement par inhibiteurs du PD-1 ou de son ligand.

Tableau 3 : Impact du TPS du PD-L1 dans l'efficacité et la réponse au traitement : résumé des données précédemment citées.

Nom de l'étude	Caractéristiques de l'étude	TPS seuil de positivité	Données relatives aux TPS/résistances	Interprétation	
KEYNOTE 001 (165)	Phase 1b Pembrolizumab Cohorte CBNPC Analyse de biomarqueur	Non défini	TPS $\geq 50\%$	ORR 30-45%	
			TPS 1-49%	ORR 12-20%	Un TPS $\geq 50\%$ semble nécessaire à l'efficacité du pembrolizumab
			TPS $< 1\%$	ORR 8%	
KEYNOTE 001 (170)	Phase 1b Pembrolizumab Cohorte mélanome Pas de mesure du PD-L1	Non défini	Population totale	ORR 33%	Indépendamment du TPS, observation de résistance chez la moitié des patients répondeurs initialement au cours de la première année de traitement.
			Population de patients répondeurs	44% des patients sont toujours répondeurs à 1 an de traitement	
KEYNOTE 024 (166,167)	Phase 3 Pembrolizumab versus chimiothérapie 1 ^{ère} ligne de traitement CBNPC TPS $\geq 50\%$ (critère d'inclusion)	50%	SSP HR 0,50 (IC95% 0,37-0,68 ; p<0,001) SG HR 0,63 (IC95% 0,47-0,86 ; p=0,002) ORR 44,8%	Efficacité supérieure de l'anti-PD-1 mais résistance manifeste de 55% des patients avec un TPS $\geq 50\%$ qui n'ont pas présenté de réponse objective.	

Tableau 3 (suite et fin) : Impact du TPS du PD-L1 dans l'efficacité et la réponse au traitement : résumé des données précédemment citées.

Nom de l'étude	Caractéristiques de l'étude	TPS seuil de positivité	Données relatives aux TPS/résistances		Interprétation
ESMO (168)	Etude rétrospective Pembrolizumab CBNPC TPS ≥ 50% (critère d'inclusion)	50% (minimum) 90% (médiane des patients répondeurs)	Population totale	ORR 45%	40% des patients avec un TPS ≥ 90% n'ont pas présenté de réponse objective.
			TPS ≥ 90%	ORR 60%	
			TPS < 90%	ORR 33%	
KEYNOTE 042 (169)	Phase 3 Pembrolizumab versus Chimiothérapie 1 ^{ère} ligne de traitement CBNPC TPS ≥ 1% (critère d'inclusion)	1%	TPS ≥ 1%	ORR 27% SG HR 0,81 (IC95% 0,71–0,93 ; p=0,0018)	Les résultats d'efficacité significatifs obtenus dans la population avec un TPS ≥ 1% semblent être portés par la population avec un TPS ≥ 50%.
			TPS ≥ 20%	ORR 33% SG HR 0,77 (IC95% 0,64–0,92 ; p=0,0020)	
			TPS ≥ 50%	ORR 39% SG HR 0,69 (IC95% 0,56–0,85 ; p=0,0003)	
Checkmate 067 (171)	Phase 3 Nivolumab seul ou Nivolumab + Ipilimumab versus Ipilimumab seul Mélanome	5%	TPS ≥ 5%	ORR 58% (Nivolumab) ORR 72% (Combinaison) ORR 21% (Ipilimumab)	Les patients avec un TPS faible peuvent également présenter des réponses objectives.
			TPS < 5%	ORR 41% (Nivolumab) ORR 55% (Combinaison) ORR 18% (Ipilimumab)	

HR = hazard ratio ; IC = intervalle de confiance ; ORR = taux de réponse objective ; SG = survie globale ; SSP = survie sans progression.

1.3.3 Mécanismes de résistance innée ou acquise aux inhibiteurs du PD-(L)1

Les mécanismes de résistance innée ou acquise aux inhibiteurs du PD-1 et PD-L1 font l'objet de nombreuses revues d'experts et d'études dédiées (172–174). Ceux listés ci-dessous et représentés sur la Figure 5 sont pour la plupart directement liés aux propriétés de la cellule cancéreuse et de son microenvironnement, présentés dans le chapitre 1.1 Principes de l'oncogenèse. Ces mécanismes ne sont toutefois pas exhaustifs.

Les résistances acquises peuvent par exemple s'expliquer par la défaillance du processus de reconnaissance tumorale par l'immunité adaptative, notamment *via* l'altération de gènes codants pour la microglobuline $\beta 2$ du CMH I (175,176). Parfois, cette défaillance est créée lors de l'immunoédition, mentionnée dans le chapitre dédié 1.2.1 Concept de l'immunoédition : le système immunitaire contre le cancer. Ce principe a notamment été observé dans certains cancers colorectaux où les CMH sont des variants porteurs de mutations sur le domaine de liaison avec les lymphocytes T cytotoxiques (177). Dans certains CBNPC résistants, on peut observer en cours de traitement la perte d'antigènes ayant une forte affinité pour les variants du CMH et particulièrement importants pour la réponse thérapeutique. Ces antigènes sont détruits lors d'une immunoédition effectuée en continu au cours du traitement, et ce phénomène explique la réponse initiale puis la résistance retardée (178). La défaillance de la reconnaissance tumorale peut également induire une résistance innée, notamment lorsqu'elle est liée à l'altération du répertoire de lymphocytes T CD8⁺ par les cellules tumorales (179).

On retrouve également une insensibilité de la cellule aux signaux anti-prolifératifs et pro-apoptotiques. Lors du traitement comme dans la réponse immunitaire naturelle, la transduction directe de ces signaux issus des lymphocytes T effecteurs à la cellule cancéreuse se fait par l'IFN γ *via* la Janus kinase (JAK) (180). L'IFN γ est également impliqué indirectement dans l'expression du PD-L1 et des CMH I. Des mutations de la JAK ont été mises en évidence dans plusieurs types de cancers et seraient impliquées dans les résistances innées et acquises à l'immunothérapie (175). La perte de ces signaux peut aussi être liée à un dysfonctionnement autour de l'IFN γ directement, par la mutation de ses récepteurs ou ses régulateurs (180). On peut également observer une défaillance de la voie extrinsèque de l'apoptose induite par la mutation de gènes codants pour les caspases impliquées dans le signal médié par Fas (176). L'ensemble de ces mutations sont généralement retrouvées chez

les tumeurs très infiltrées par les lymphocytes T cytotoxiques, et sont générées comme résistance à l'activité cytolytique.

Par ailleurs, sur des tumeurs résistantes aux anti-PD-1, des changements dans l'infiltration tumorale par les lymphocytes T cytotoxiques ont été observés chez les patients répondant au traitement et ceux en rechute (175). Ce phénomène est permis par l'action simultanée d'autres propriétés de la cellule et de son microenvironnement. On note notamment l'augmentation de facteurs pro-angiogéniques, qui contribuent à la mise en apoptose des lymphocytes T CD8⁺ au niveau vasculaire, ou encore le recrutement de cellules immunosuppressives aux abords de la tumeur qui vont restreindre l'action des lymphocytes T CD8⁺ aux seules marges tumorales (181,182). Ces données supportent l'association des immunothérapies à d'autres agents favorisant l'infiltration des cellules T, par exemple l'association d'avelumab à axitinib, agent anti-angiogénique. La base de l'immunothérapie étant de restaurer l'activité des lymphocytes T, on a pu également observer des modifications épigénétiques qui empêchent les lymphocytes T CD8⁺ restaurés d'acquérir leur phénotype T mémoire, ce qui abrège l'efficacité de l'immunothérapie et conduit à une résistance primaire (183). Un autre impact du microenvironnement repose sur la disponibilité limitée de nutriments aux abords de la tumeur, qui perturbe la différenciation en lymphocytes T cytotoxiques et leur infiltration : hypoxie, taux élevé d'acide lactique, pénurie en acides aminés et glucose (184). En revanche, les lymphocytes Treg utilisent des voies métaboliques différentes leur permettant d'être favorisés dans cet environnement et d'exercer leur activité de tolérance immunitaire (182,184). On a vu également que l'inflammation procurait à la cellule tumorale un environnement favorable à son développement, en contribuant à la plasticité de la tumeur et au développement de variants (81). Paradoxalement, les immunothérapies induisent par défaut une inflammation. Dans certains cancers résistants d'emblée à ces agents, on retrouve une augmentation de l'expression de gènes particulièrement impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse et une augmentation de la sécrétion du facteur de nécrose tumorale alpha (TNF α), responsable de la reprogrammation en une signature génétique favorisant la plasticité cellulaire, la dissémination métastatique et par extension la résistance au traitement (185–187). On cherche donc à caractériser les signatures génétiques et moléculaires (notamment les composantes immunitaires et inflammatoires) impliquées dans les résistances aux inhibiteurs des points de contrôle immunitaire. Cette caractérisation permet d'identifier des biomarqueurs dérivés de ces mécanismes qui pourraient supporter la stratégie thérapeutique et/ou apporter une prédiction de l'évolution clinique.

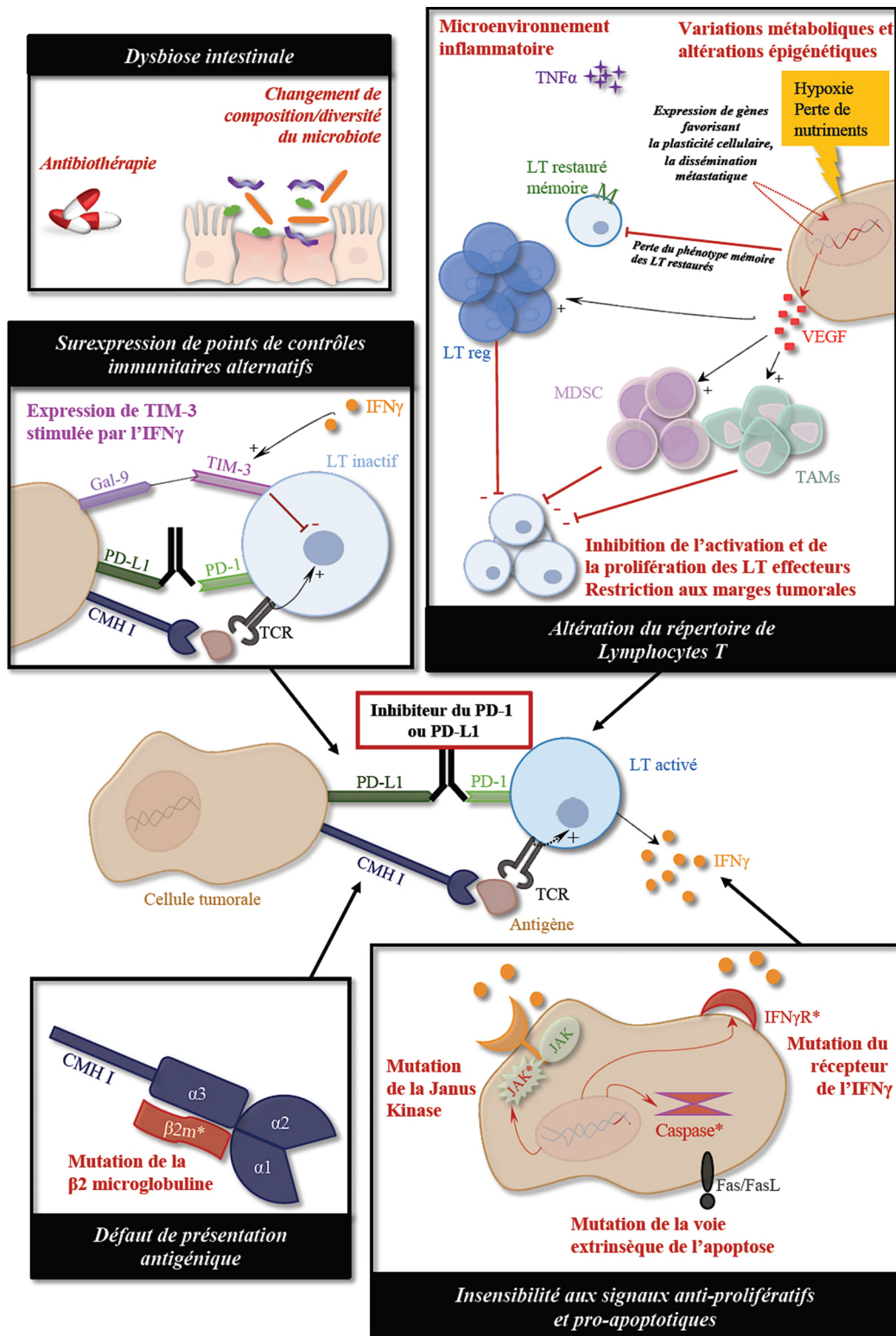


Figure 5 : Synthèse des mécanismes pouvant induire une résistance aux inhibiteurs du PD-(L)1. CMH I = complexe majeur d'histocompatibilité de type I ; Fas = fragment inducteur d'apoptose ; FasL = ligand de la protéine Fas ; Gal-9 = Galectine 9 ; IFN γ = interféron gamma ; IFN γ R = récepteur de l'IFN γ ; JAK = Janus kinase ; LT = lymphocyte T ; LT reg = lymphocyte T régulateur ; MDSC = cellules myéloïdes suppressives ; PD-1 = protéine 1 de mort cellulaire programmée de type 1 ; PD-L1 = ligand 1 du récepteur PD-1 ; STATs = facteurs transducteurs du signal et activateurs de la transcription ; TAMs = macrophages associés à la tumeur ; TCR = récepteur de la cellule T ; Tim-3 = Protéine-3 des cellules T contenant un domaine immunoglobuline et un domaine mucine ; TNF α = facteur de nécrose tumorale alpha ; UV = rayons ultra-violet ; VEGF = facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Un autre mécanisme identifié est la compensation de l'inhibition thérapeutique d'un point de contrôle immunitaire par la surexpression d'autres points de contrôle immunitaire. PD-L1 est par exemple surexprimé grâce à l'IFN γ en réponse au traitement par anti-CTLA4. La protéine-3 des cellules T contenant un domaine immunoglobuline et un domaine mucine (Tim-3), un autre point de contrôle immunitaire, serait surexprimée en réponse à l'inhibition du signal PD-1/PD-L1 (188).

Enfin, l'impact de la composition du microbiote intestinal sur la réponse à l'immunothérapie fait l'objet de recherches plus récentes. Ces études ont permis d'identifier qu'une faible diversité du microbiote, la prédominance de certains microorganismes et la prise d'antibiotiques préalablement à l'immunothérapie auraient un effet délétère sur l'efficacité du traitement (189–191).

1.4 Conclusion

La connaissance des mécanismes de résistance aux inhibiteurs du PD-1 et du PD-L1 contribue au développement de la recherche sur les biomarqueurs. L'identification de marqueurs prédictifs de l'efficacité des traitements est un versant indispensable de la lutte contre le cancer afin de bénéficier du potentiel d'efficacité optimal des stratégies thérapeutiques actuellement disponibles et anticiper les phénomènes de résistance. Base de la médecine personnalisée, il est essentiel que les patients puissent bénéficier dès la première ligne de traitement d'une stratégie adaptée à leur profil tumoral, et à leur signature génétique et moléculaire afin d'obtenir un effet durable, limiter les risques de récurrences et l'évolution de la maladie. Les patients gagneront également en qualité de vie et en sécurité en n'étant exposés qu'aux traitements auxquels ils seraient répondeurs, en particulier lorsqu'il s'agit d'immunothérapies, thérapies couteuses et dont les potentiels effets indésirables liés à la modulation de l'immunité doivent être particulièrement maîtrisés.

2 IDENTIFICATION DE BIOMARQUEURS PREDICTIFS DE LA REPONSE AU TRAITEMENT PAR INHIBITEURS DU SIGNAL PD-(L)1

Nous avons vu qu'en dépit de l'efficacité considérable et prometteuse des inhibiteurs du PD-(L)1, certaines populations de patients ne répondent pas favorablement au traitement, en résistant d'emblée ou plus tardivement. Il est donc nécessaire d'identifier des biomarqueurs, par exemple des analytes ou des combinaisons d'éléments qui, exprimés spécifiquement par certaines cellules cancéreuses ou dans le microenvironnement tumoral, permettraient de prédire la réponse au traitement, selon leur taux d'expression. L'objectif de cette identification est de permettre aux patients de bénéficier d'une stratégie alternative spécifique, qui leur permettra de contourner ce profil résistant en modifiant l'activité ou en éliminant les cellules porteuses d'antigènes afin d'obtenir une réponse thérapeutique durable.

Grâce à l'identification des mécanismes de résistance cités précédemment, des signatures immunitaires, moléculaires, génétiques, ou virales ont été identifiées comme cibles potentielles.

Dans cette partie, nous allons décrire les biomarqueurs validés pour prédire l'efficacité des inhibiteurs du signal PD-(L)1 ainsi qu'une liste non exhaustive de biomarqueurs prédictifs potentiels pour lesquels les données sont les plus avancées.

2.1 Biomarqueurs liés à la tumeur et au système immunitaire

2.1.1 Expression du PD-L1

2.1.1.1 Détection du PD-L1 membranaire : test diagnostique par immunohistochimie

L'expression membranaire du PD-L1 par les cellules tumorales ou les cellules immunitaires est un biomarqueur validé pour évaluer d'un premier abord la susceptibilité de réponse aux inhibiteurs du signal PD-1/PD-L1, bien que sa reproductibilité ne soit pas parfaite.

On évalue le taux d'expression du PD-L1 par des tests immunohistochimiques (IHC) réalisés sur un prélèvement de matériel tumoral. Ces tests IHC consistent au marquage des ligands exprimés sur les cellules tumorales ou sur les cellules de l'immunité, *via* un anticorps de détection (192). Bien que cinq kits diagnostiques soient désignés comme références approuvées par l'Agence Américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) et l'Agence Européenne du Médicament (EMA), pour chaque agent thérapeutique et pour certaines indications (Tableau 4), on dénombre une grande variété de dispositifs *in vitro*

actuellement disponibles sur le marché (193). Ils sont produits par des fabricants indépendants ou par les laboratoires pharmaceutiques développant l'agent thérapeutique concerné. Ces tests utilisent des anticorps de détection différents, des plateformes d'analyse ainsi que des algorithmes de scores et des seuils de positivité variés, dépendant de l'indication dont il est question.

Tableau 4 : Tests diagnostiques IHC PD-L1 approuvés et considérés comme référence (état du 01/04/2020).

Test	Agent thérapeutique	Indications approuvées	Fabricant	Autorisations
PD-L1 IHC 22C3 pharmDx (194)	Pembrolizumab	<ul style="list-style-type: none"> - CBNPC - Cancer gastrique ou cancer de la jonction gastroesophagienne - Carcinome urothélial - Cancer de la tête et du cou squameux - Cancer du col de l'utérus - Cancer de l'œsophage à cellules squameuses 	Dako	FDA test compagnon Marquage de conformité européenne (CE)
PD-L1 IHC 28-8 pharmDx (195)	Nivolumab	<ul style="list-style-type: none"> - CBNPC - Mélanome 	Dako	FDA test complémentaire Marquage CE
VENTANA PD-L1 (SP142) Assay (197)	Atezolizumab	<ul style="list-style-type: none"> - Carcinome urothélial - Cancer du sein triple négatif 	Ventana	FDA test compagnon Marquage CE
VENTANA PD-L1 SP263 Assay (198)	Durvalumab	Carcinome urothélial	Ventana	FDA test complémentaire Marquage CE
73-10 assay (199)	Avelumab	A définir	Dako	FDA test complémentaire

Le système de score le plus largement utilisé, en particulier dans le CBNPC, est donc le TPS qui correspond au nombre total de cellules tumorales exprimant PD-L1 divisé par le nombre total de cellules tumorales (196). D'autres algorithmes existent, comme le score positif combiné (CPS ou *combined positive score*) qui correspond au ratio entre le nombre total de cellules exprimant PD-L1 (les cellules tumorales mais aussi les cellules de l'immunité) et le nombre total de cellules tumorales, multiplié par 100. Le test diagnostique de référence associé à atezolizumab utilise un système de score basé sur le ratio entre les cellules tumorales et les cellules de l'immunité infiltrant la tumeur exprimant PD-L1 (200).

Jusqu'à présent, l'absence ou la faible durée de réponse constatées chez les patients exprimant PD-L1 ont pu être justifiées par l'existence de mécanismes de résistance additionnels contrecarrant le blocage du point de contrôle immunitaire. Ces mécanismes ne permettent toutefois pas d'expliquer les réponses objectives parfois observées chez des patients qui n'expriment pas PD-L1 (171). L'une des raisons qui pourraient expliquer cette observation est qu'il n'y a pas d'approche standardisée dans l'étude de l'expression de PD-L1 à l'heure actuelle (201). Dans le cancer épidermoïde de la tête et du cou notamment, pembrolizumab est approuvé depuis 2016 par la FDA en deuxième ligne de traitement indépendamment de l'expression du PD-L1, tandis qu'il est approuvé pour la même indication par l'EMA uniquement pour des tumeurs avec un TPS d'au moins 50% (202,203). Ce seuil a par ailleurs été désigné car correspondant au meilleurs compromis entre le nombre de vrais et de faux positifs (165). En 2019, le pembrolizumab a été approuvé par la FDA et l'EMA également en première intention, mais conditionné cette fois par la présence d'un CPS supérieur ou égal à 1 (204).

A l'heure actuelle, la mesure du PD-L1 est requise par la FDA et EMA uniquement dans le cadre de l'administration du pembrolizumab ou d'atezolizumab, par la dénomination « test compagnon ». Ce terme implique que la réalisation du test diagnostique est indispensable à l'efficacité et la sécurité de l'administration de l'agent thérapeutique (205,206). L'utilisation des autres tests de références disponibles qui portent la dénomination « test complémentaire » est donc optionnelle.

Dans la pratique clinique, de nombreuses limitations entourent la réalisation des tests diagnostiques du PD-L1, ce qui complique leur interprétation et remet finalement en question leur intérêt fondamental dans la prise de décision clinique (192). Développés pour un seul agent thérapeutique, il faut d'emblée considérer l'immunothérapie qui sera administrée et le cadre d'utilisation du test spécifié dans l'AMM de cet agent. Les caractéristiques intrinsèques du test lui-même sont importantes (notamment l'affinité et la spécificité de l'anticorps utilisé pour la détection, instabilité des épitopes) ainsi que les variables et contraintes à sa réalisation (concentration de l'anticorps, environnement, plateformes, système de score...). Il est également nécessaire de prendre en compte l'hétérogénéité tumorale, l'expression du PD-L1 variant notamment selon le site anatomique (207). Il faut aussi anticiper l'ensemble des facteurs logistiques et biologiques qui pourraient influencer l'expression du ligand et induire un biais d'interprétation du score : les biopsies effectuées trop en amont de la réalisation du test, la qualité du matériel tumoral, les précédentes lignes de traitement par chimiothérapie, mais aussi la variabilité inter-

individuelle liée à l'observateur (208). En l'absence d'un protocole de mesure standardisé, il est donc difficile d'obtenir avec certitude une mesure précise, fiable et représentative de l'expression du PD-L1 au moment de l'administration de l'inhibiteur du point de contrôle immunitaire.

Ces anticorps de détection ayant été co-développés avec une immunothérapie unique, et de manière isolée de leur « concurrents », on cherche aujourd'hui à comparer la précision diagnostique du portefeuille des tests disponibles, et mettre en évidence leur interchangeabilité (193,209–214). Ces études sont menées face aux problèmes rencontrés par la communauté médicale : il n'est d'une part pas envisageable pour les hôpitaux de s'équiper de l'intégralité des dispositifs destinés à la seule évaluation de l'expression du PD-L1 pour un unique agent thérapeutique, et il n'est rationnellement pas envisageable non plus de soumettre l'échantillon tumoral à l'ensemble des tests. L'objectif de ces études comparatives est donc de définir un protocole harmonisé et raisonnable qui puisse contribuer, en pratique, à appuyer la décision thérapeutique en faveur d'un traitement en particulier.

La plupart de ces analyses sont réalisées dans le cancer du poumon, où la décision clinique repose également sur la mesure d'autres marqueurs (ALK, EGFR...) auquel l'échantillon tumoral est déjà soumis. Le projet Blueprint a été l'un des pionniers dans ce domaine : l'objectif était de comparer dans un premier temps la performance des quatre tests diagnostiques de référence sur un échantillonnage commercial par une étude de faisabilité, puis de vérifier ces résultats sur la population réelle internationale, en intégrant aussi le cinquième test plus récemment développé pour avelumab (213,214). D'autres études comparatives plus ou moins localisées ont ensuite été réalisées et portent des conclusions similaires (209–212). Le marquage membranaire des cellules tumorales par les différents anticorps de référence serait comparable, avec une sensibilité apparente moindre avec l'anticorps SP142. Les interprétations des pathologistes sont donc concordantes en utilisant les systèmes de score de référence. Une première observation a également été faite dans la phase 2 de l'étude Blueprint pour l'anticorps en développement 73-10 qui serait plus sensible que les autres et pourrait constituer un anticorps de détection applicable à plusieurs agents thérapeutiques (214). En revanche, les tests montrent une plus grande variabilité dans le marquage des cellules immunitaires infiltrant la tumeur, ce qui engendre des interprétations discordantes et donc des conclusions différentes sur la stratégie à suivre. Ces études ne prennent pas en compte la réponse obtenue suite à l'administration des immunothérapies, ce

qui ne permet pas de conclure avec précision sur la sensibilité et la spécificité des différents anticorps utilisés.

Les résultats observés quant au marquage des cellules tumorales sont confirmés dans une méta-analyse récemment publiée, qui compare les résultats de vingt-deux études (incluant certaines précédemment citées) quant à la performance diagnostique des anticorps étudiés, pour différents seuils de positivité (193). Cette méta-analyse confronte les tests de références deux à deux, mais confronte également les tests de références à des anticorps de détection candidats et protocoles développés par d'autres laboratoires. L'étude conclut que ces anticorps candidats pourraient être plus performants dans divers types de cancers que les tests approuvés par les agences décisionnelles pour une seule indication. A l'heure actuelle, aucune étude n'a été en mesure de conclure de manière significative quant à l'interchangeabilité ou non des anticorps de référence, des plateformes d'analyse ou des algorithmes de score, qui doit être démontrée dans une étude prospective.

2.1.1.2 Détection du PD-L1 soluble : une piste à explorer

Des études *in vitro* ont démontré l'existence de formes solubles sériques du récepteur PD-1 (sPD-1) et du ligand PD-L1 (sPD-L1), dont il est possible de mesurer le niveau d'expression par la méthode immuno-enzymatique ELISA (215). En se liant au PD-1, sPD-L1 serait impliqué dans l'immunosuppression et l'entrée en apoptose des cellules T activées, en particulier les lymphocytes CD4⁺.

Un niveau d'expression élevé de ces éléments solubles avant le traitement serait significativement associé à des formes agressives du cancer : tumeur primitive large, classification tumorale élevée et nécrose (215,216). sPD-L1 serait corrélé à la progression de la maladie et à un risque de décès augmenté. L'hypothèse formulée à ce jour est que la libération de PD-L1 sous forme soluble par les cellules tumorales PD-L1 positives serait un mécanisme d'échappement tumoral supplémentaire à l'immunité anticancéreuse. sPD-L1 permet de contrecarrer le système immunitaire au niveau des sites tumoraux en plus de sa forme membranaire, mais aussi de façon systémique, facilitant ainsi la croissance tumorale, la dissémination et l'invasion métastatique. Cette hypothèse permettrait d'expliquer le caractère plus agressif des tumeurs pour lesquelles une grande quantité de sPD-L1 est mesurée.

Les études réalisées ne permettent cependant pas de définir si, *in vivo*, le sPD-L1 est activement libéré par les cellules tumorales dans un mécanisme de défense ou s'il provient de débris cellulaires, en particulier après l'administration des traitements anticancéreux (215). En revanche, d'autres études ont permis de révéler que les cellules de la lignée myéloïde, qui expriment naturellement PD-L1, sont également impliquées dans la libération sérique des formes solubles, et en particulier les cellules dendritiques matures (217,218). Les cellules T activées qui expriment également naturellement PD-L1 serait impliquées dans une bien moindre mesure, ce qui permet de supposer que les mécanismes régulant la libération et/ou l'expression des formes solubles sont distincts pour les deux types cellulaires. Il existerait donc plusieurs variants d'origine tumorale ou immunitaire de ces protéines solubles. Aucune conclusion ne peut cependant être apportée quant au mode de production de ces protéines. Toutefois, l'action de métalloprotéases de la matrice extracellulaire a été observée dans la production des formes solubles tronquées d'autres protéines analogues au PD-L1, ce qui pourrait constituer une hypothèse également applicable au sPD-L1 (219). Les données actuelles ne permettent pas non plus de conclure quant à l'effet des immunothérapies sur le niveau d'expression du marqueur soluble.

La mesure de l'expression du PD-(L)1 circulant n'est actuellement pas un biomarqueur prédictif et/ou pronostique validé mais représente une piste d'exploration intéressante : la mesure sérique du PD-L1 permettrait notamment de s'affranchir, dans certains cas, des techniques invasives de prélèvement du matériel tumoral nécessaires à la détection des formes membranaires (218).

2.1.2 Composante immunitaire des tumeurs et de leur microenvironnement

2.1.2.1 Les lymphocytes comme outil thérapeutique

La reconnaissance et l'infiltration des cellules tumorales par les cellules immunitaires est un mécanisme de défense anti-tumoral médié par l'immunité adaptative en réponse à l'expression d'antigènes tumoraux libérés après l'action de l'immunité innée (99). Ce mécanisme a fait l'objet de nombreuses études depuis les années 1980 afin d'identifier les différents phénotypes des cellules impliquées, leur rôle et déterminer leur éventuelle valeur thérapeutique (94). Ces études ont notamment contribué au développement des premières immunothérapies impliquant des lymphocytes, comme la thérapie cellulaire par transfert adoptif de lymphocytes T infiltrant (TILs) autologues, aujourd'hui indiquée dans le

traitement du mélanome. Toutefois, les résultats prometteurs observés sur les modèles murins se sont finalement avérés plus décevants chez l'homme lors des essais cliniques, et ce procédé implique de nombreuses contraintes techniques liées à sa préparation (220–222). De ce fait, son utilisation en pratique clinique est donc réduite, ce qui a également limité son développement dans d'autres types de cancer. L'utilisation thérapeutique des lymphocytes T modifiés par ingénierie cellulaire a ensuite évolué vers les cellules T porteuses d'un antigène chimérique (dites cellules CAR-T), actuellement indiquées dans le traitement des hémopathies malignes dont les lymphomes à grandes cellules B et la leucémie aigüe lymphoblastique (223–225). Dans ce cas de figure, les lymphocytes modifiés n'infiltrent pas la tumeur mais la ciblent puis s'activent pour la détruire au moyen d'un récepteur chimérique exprimé à leur surface, qui reconnaît la protéine CD19 exprimée par les cellules B. Contrairement aux TILs autologues modifiés, ce signal de reconnaissance est indépendant du CMH. Ce type de thérapie génique nécessite une expertise spécifique et doit être exécutée dans des centres de lutte contre le cancer agréés, ce qui limite encore une fois son utilisation.

Un groupe de chercheurs britanniques vient également d'identifier *in vitro* un TLR ubiquitaire des cellules T mais inactif dans les cellules saines, qui *via* la protéine 1 liée au CMH (MR1), serait en mesure de cibler spécifiquement et indifféremment les cellules cancéreuses (226). Cette découverte représente une stratégie thérapeutique intéressante qui consisterait notamment au transfert de TILs équipés de ce TLR chez les patients atteints de cancer dont les lymphocytes T naturels présenteraient un défaut de reconnaissance anti-tumorale.

2.1.2.2 *Les lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs)*

2.1.2.2.1 Valeur pronostique

En plus de leur potentiel thérapeutique, la forte valeur pronostique des infiltrats immunitaires est aujourd'hui largement étudiée. Dans de nombreux types de tumeurs, une infiltration dense en particulier par les lymphocytes T est significativement corrélée à une évolution favorable du cancer, montrée par une survie sans progression prolongée après résection chirurgicale et une amélioration de la survie globale (227–229).

En 2006, une étude menée sur des tumeurs colorectales a confirmé les premières observations tout en démontrant l'importance du type de cellules infiltrant, leur fonction, leur densité et leur localisation intra-tumorale (au centre ou en périphérie sur les marges

d'invasion) dans la capacité à prédire l'évolution clinique (230). Le terme de texture immunitaire a donc été formulé afin de prendre en compte ces quatre paramètres : déterminer sa « cartographie » permettrait de catégoriser les tumeurs en groupes pronostiques plus précis et de façon complémentaire à la classification *Tumor Node Metastasis* (TNM) usuelle (230–232).

La plupart des analyses histopathologiques d'échantillons tumoraux montrent qu'un bon pronostic serait principalement corrélé à la forte infiltration du centre de la tumeur et des marges d'invasion par les lymphocytes T cytotoxiques et les facteurs cytotoxiques associées (perforine, granulysine), par les lymphocytes T mémoires, en particulier ceux au profil auxiliaire Th1 (exprimant l'IFN γ , l'interleukine-12), et une faible infiltration par les lymphocytes Treg compte tenu de leur action dans la tolérance immunitaire (90,231). Ce profil généraliste n'est pas universel pour autant (90,181,182). En effet, l'infiltration par les lymphocytes Treg est corrélée à un bon pronostic dans le cancer colorectal. Dans le carcinome à cellules rénales et certains lymphomes, l'infiltration des marges invasives par les lymphocytes cytotoxiques est associée à un mauvais pronostic, signe d'une activité angiogénique particulièrement intense et d'un défaut dans le recrutement des cellules T leur empêchant de s'infiltrer au centre de la cellule.

Aujourd'hui la quantification des infiltrats immunitaires n'est pas encore validée comme biomarqueur pronostique de la survie globale, mais des outils de mesure sont en cours de développement et de validation. C'est le cas notamment de l'immunoscore, évalué dans le cancer colorectal, qui permet de catégoriser le pronostic des tumeurs selon leur texture immunitaire, en complément de la classification TNM (232,233). Le développement d'un biomarqueur serait particulièrement intéressant pour identifier les patients au profil immunitaire « bas » qui bénéficieraient le plus d'un traitement adjuvant ou néoadjuvant à la résection chirurgicale (230).

2.1.2.2.2 Valeur prédictive de la réponse au traitement

La première mise en évidence de la valeur prédictive de la composante immunitaire des tumeurs a été faite chez des patients traités par 5-fluoro-uracile (234). Suite à l'arrivée des immunothérapies et à l'augmentation du nombre d'options thérapeutiques disponibles, de nombreuses études de cohortes ont été réalisées pour évaluer le lien entre l'efficacité de

ces agents thérapeutiques et la présence d'infiltrats immunitaires. A l'instar des études menées sur le potentiel pronostique des infiltrats immunitaires, les preuves quant à leur valeur prédictive sont aujourd'hui nombreuses et parfois discordantes, variables d'une tumeur à l'autre.

Les quatre paramètres de la contexture immunitaire auraient un rôle dans la prédiction de la réponse au traitement. Le phénotype, la fonction des cellules infiltrant et leur densité sont particulièrement discutés. Dans le mélanome, une réponse favorable au traitement serait corrélée à la présence de lymphocytes T CD8⁺ et CD4⁺ intra-tumoraux (235). Cette étude distingue par ailleurs deux populations de TILs, celle porteuse d'un phénotype de type mémoire et celle porteuse de marqueurs d'épuisement lymphocytaire. La prédominance de la signature immunologique de type mémoire serait positivement associée à la réponse aux inhibiteurs du PD-(L)1. L'expression du facteur de transcription 7 (TCF7) sur les TILs serait également corrélée à une meilleure réponse au traitement et à un meilleur pronostic.

Le score cytolitique est un système de mesure développé afin d'évaluer l'activité cytotoxique médiée par les cellules T effectrices infiltrant (176). Ce score serait plus élevé chez les patients répondant aux inhibiteurs du PD-L1, d'après une étude réalisée sur plusieurs échantillons de tumeurs solides.

L'expression du PD-1 par les TILs serait également un marqueur de l'efficacité du traitement. En plus des preuves déjà apportées quant à la valeur prédictive de l'expression du PD-L1, une étude menée dans le cancer du poumon a permis de catégoriser les lymphocytes T CD8⁺ infiltrant selon leur niveau d'expression du récepteur et leur fonction (236). Les TILs surexprimant PD-1 (TILs PD-L1^T comme nommés dans l'étude) correspondraient à une sous-population de TILs anergiques ayant perdu leurs fonctions effectrices et donc la capacité de sécréter des cytokines cytotoxiques, mais réactivés suite à l'action des inhibiteurs du PD-(L)1. En étant réactivés, ces TILs présenteraient des fonctionnalités altérées, en comparaison aux autres populations exprimant normalement ou n'exprimant pas PD-1, avec notamment une signature transcriptomique et un métabolisme modifiés. Cependant, les TILs PD-L1^T sécrèteraient le ligand chimiokine 13 à motif CXC (CXCL13) responsable du recrutement dans le microenvironnement de cellules immunitaires par chimiotactisme (notamment les lymphocytes B et les lymphocytes T folliculaires *helper*). Le recrutement de ces cellules de l'immunité médié par CXCL13 avait déjà été associé à une amélioration de la survie chez des patients atteints de cancer colorectal, bien que non traités par inhibiteurs du point contrôle immunitaire (237). Ces observations

ont permis d'établir que la détection des TILs PD-L1^T avant le traitement pourrait constituer un marqueur prédictif positif de l'efficacité du traitement en termes de réponse objective et de survie globale (236). En revanche, des conclusions contradictoires quant à l'expression du PD-1 par les TILs avaient été formulées auparavant, notamment dans le cancer de la tête et du cou, où une forte expression serait corrélée à un mauvais pronostic et une perte d'efficacité (238). La différence de conclusion peut être cependant expliquée par la différence de traitement chez ces patients, non traités par inhibiteurs PD-(L)1, et par l'infection par le papillomavirus humain. Par ailleurs, une étude réalisée en 2016 dans le mélanome suggère également que l'infiltration immunitaire évaluée au cours des premières administrations des inhibiteurs du point de contrôle immunitaire présenterait une meilleure valeur prédictive que l'évaluation de la texture immunitaire avant l'initiation du traitement (239). Ces observations soulignent une fois de plus l'existence de facteurs confondants intervenant dans la modulation de l'infiltration tumorale et des multitudes de combinaisons possibles, ce qui explique la difficulté des chercheurs à définir un modèle prédictif standardisé pour toutes les tumeurs.

La distribution clonale des TCR des TILs aurait également un impact sur la susceptibilité de réponse au traitement, bien que ce lien soit compliqué à évaluer. Si les études s'accordent sur une relation existante, les conclusions divergent quant à définir si cette corrélation existe avant le traitement ou apparaît pendant (154,240). Une étude dans le cancer urothélial montre paradoxalement que la clonalité des TCR du répertoire de lymphocytes T en périphérie serait négativement corrélée à l'efficacité du traitement tandis qu'il n'y aurait pas de corrélation avec la clonalité du répertoire central (241). L'administration préalable d'autres immunothérapies (par exemple un inhibiteur du CTLA-4) générerait des mutations qui induiraient une évolution clonale, ce qui aurait une incidence finale sur la susceptibilité de réponse au traitement par anti-PD-(L)1 subséquent (240).

Concernant la localisation, l'infiltration périphérique des lymphocytes T CD8⁺ dans le mélanome présenterait la meilleure valeur prédictive, suivi dans une moindre mesure par la densité au centre de la tumeur, l'expression du PD-1, l'expression du PD-L1 et la densité des lymphocytes T CD4⁺ (154).

2.1.2.3 *Le microenvironnement immunitaire*

Au-delà de l'infiltration par les lymphocytes, la valeur pronostique et/ou prédictive des autres composants du système immunitaire est également largement débattue. La plupart

des analyses comparant d'ailleurs maintenant les données en cours de traitement et avant le traitement.

2.1.2.3.1 Les structures lymphoïdes tertiaires

En principe, la réponse immunitaire adaptative, qu'elle soit anti-tumorale ou anti-infectieuse, est initiée au niveau des organes lymphoïdes secondaires (242). Ces organes, souvent situés à distance de la tumeur, sont le siège de la présentation, l'activation et la prolifération des cellules T et B, qui seront ensuite envoyées au niveau du site tumoral pour exercer leur action.

Le système immunitaire, sous l'effet de l'inflammation en continue, en vient parfois à s'organiser afin de faciliter et d'accroître son contrôle sur la tumeur : les cellules immunitaires peuvent s'agréger de façon structurée au sein de la tumeur ou dans son stroma pour former des structures lymphoïdes tertiaires (TLS), qui constitueront un nouveau foyer de la réponse immunitaire anti-tumorale adaptative à proximité immédiate de la tumeur. Ces agrégats sont organisés, avec une zone constituée de cellules T et une zone folliculaire responsable de la prolifération et de la différenciation des cellules B en centre germinal (90). Plusieurs analyses de ces TLS ont pu mettre en évidence la mise en place d'une réponse immunitaire à l'orientation cytotoxique et Th1, ainsi que la présence de cellules dendritiques, en particulier celles porteuses de glycoprotéines de membranes associées aux lysosomes (DC-LAMP) (243). Le rôle exact des DC-LAMP est cependant encore discuté : il y a d'une part la présentation d'antigènes aux lymphocytes T qui semble évidente, mais la détection d'immunoglobulines dans des métastases ovariennes dirigées contre la tumeur suggérerait une réponse cellulaire B dépendante des cellules T, qui serait facilitée par l'intervention de la chimiokine CXCL13 (242,244). Dans le cancer du pancréas, les tumeurs ayant une faible densité de TLS seraient également moins infiltrées par les cellules immunosuppressives mais présenteraient un profil génétique favorisant les lymphocytes Th17 (245). En résumé, l'action combinée de cellules T cytotoxiques et des cellules B générées au sein des TLS permettrait au système immunitaire d'éliminer la tumeur directement et *in situ*, par CCDA ou encore par l'activation du complément, tandis que les cellules mémoires contribueraient à la prévention de la dissémination métastatique (242). La présence de TLS dans de nombreuses tumeurs traduit donc la capacité du système immunitaire à exercer une action anti-tumorale élevée et en continue, ce qui constitue un marqueur de bon pronostic. Les conclusions dans le cadre du carcinome hépatocellulaire sont plus controversées. Une étude

réalisée en 2015 sur un modèle murin suggérait que les TLS localisées dans les tissus hépatiques non-tumoraux pourraient servir de niche de stockage aux progéniteurs d'hépatocytes malins qui interviendraient dans la rechute tardive du cancer, ce qui correspondrait donc à un état pré-tumoral (246). Ces résultats ont été nuancés par la suite dans une étude de cohorte qui a démontré que les TLS intra-tumorales seraient bien corrélées à la diminution du risque de rechute précoce compte-tenu de l'activité immunitaire effectrice en place (247). Cette étude n'a cependant pas été en mesure de conclure quant à la valeur pronostique des TLS localisées dans le parenchyme sain du foie.

Concernant le potentiel prédictif des TLS, les conclusions ne dépendent finalement pas de leur présence en soi mais surtout de la détection des cellules de l'immunité qu'elles abritent. L'étude de D.S. Thommen et al., mentionnée dans le sous-chapitre précédent, avait démontré l'importance dans la réponse au traitement des TILs surexprimant PD-L1 (les TILs PD-L1^T) (236). Cette étude a par ailleurs mis en évidence que ces TILs étaient majoritairement situés dans les TLS péri- et intra-tumoraux. Cette position à l'interface de la tumeur et de l'hôte leur confère ce rôle stratégique dans le recrutement des autres cellules de l'immunité *via* notamment la chimiokine CXCL13. L'induction de TLS par l'administration de cytokines ou encore des vaccins thérapeutiques combinés à l'immunothérapie par inhibiteur du PD-(L)1 constitue donc une piste thérapeutique intéressante pour transformer des tumeurs au profil immunologique bas en tumeurs très immunogènes et donc plus susceptibles de répondre au traitement (242,248).

2.1.2.3.2 Les macrophages

Les macrophages associés aux tumeurs (TAMs) sont les représentants majoritaires de l'inflammation dans le microenvironnement tumoral (249). Ils ont une double fonction, selon leur phénotype induit par la présence de signaux dans le microenvironnement. En présence de stimuli bactérien ou de l'action des lymphocytes auxiliaires Th1 notamment, les macrophages se polarisent vers un type M1 et ont un rôle pro-inflammatoire. Les macrophages de type M2 ont un rôle dans la promotion de l'oncogénèse (en favorisant l'angiogénèse, le remodelage de la matrice extracellulaire et l'immunosuppression de l'immunité adaptative) et sont polarisés en présence d'interleukine-10 (250).

L'expression du PD-1 par les TAMs induit une diminution de leur capacité à phagocyter, ce qui contribue à l'altération du système de destruction des cellules tumorales

(249). De ce fait, les marqueurs du phénotype M2 sont donc davantage retrouvés sur les TAMs exprimant PD-1, tandis que les marqueurs de type M1 sont prédominants sur les TAMs PD-1 négatifs. Les tumeurs présentant une infiltration dense par les TAMs de type M2 PD-1⁺ seraient plus agressives et de stade plus élevé. Par ailleurs, l'expression de PD-1 serait corrélée à la taille de la tumeur. L'inhibition de PD-1 par des immunothérapies anti-PD-1 contribuerait donc à restaurer le rôle des macrophages dans le contrôle de la croissance tumorale, et n'aurait pas d'incidence sur la densité de la population de TAMs PD-1⁺. Dans le lymphome Hodgkinien, l'expression de PD-1 par les TILs est très hétérogène : une perte d'expression du CMH I est souvent observée, ce qui contrecarre la réponse cellulaire T (251,252). En théorie, l'efficacité des inhibiteurs du PD-1 devrait donc être relative. En pratique, d'excellentes réponses ont été observées lors des essais cliniques, ce qui traduit l'action potentielle de l'agent thérapeutique sur les macrophages. La valeur prédictive proprement dite des macrophages est à ce jour relativement peu discutée. Dans le cadre du cancer du sein traité par un anticorps dirigé contre le récepteur au facteur de croissance épidermique humain de type 2 (HER2), la prédominance des macrophages de type M1 a été associée à l'augmentation des lymphocytes T CD8⁺ infiltrant, qui constitue un marqueur prédictif avéré d'une réponse favorable au traitement (253).

La présence de macrophages ne semble pas constituer un biomarqueur prédictif indépendant. Néanmoins, il est important de prendre en compte l'expression possible du PD-1 par les macrophages de type M2 comme marqueur de l'efficacité potentielle des inhibiteurs du PD-1 dans le traitement de tumeurs supposées peu immunogènes.

2.2 Biomarqueurs liés au génome

2.2.1 Mutations d'oncogènes

L'accès à certaines thérapies ciblées est conditionné par la détection de mutations d'oncogènes, de gènes suppresseurs de tumeurs ou de réarrangements spécifiques. Parmi les plus connues, la détection de la surexpression ou de l'amplification du gène *HER2* dans le cancer du sein ou encore les différentes mutations et réarrangements impliqués dans le CBNPC (ALK, EGFR...) servent de biomarqueurs prédictifs à l'efficacité des agents thérapeutiques qui ciblent spécifiquement les produits de ces mutations (254,255). L'analyse génétique de certains cancers est donc un prérequis à la décision thérapeutique.

Dans le cadre de l'identification de biomarqueurs prédictifs de l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1, l'analyse des mutations génétiques ou épigénétiques se focalise surtout autour de celles impliquées dans la surexpression du ligand. Des mutations peuvent se retrouver dans plusieurs voies de signalisation, et constituent la voie oncogénique considérée comme mécanisme de résistance innée à l'immunité anti-tumorale (Figure 3). Par extension, les éléments impliqués dans l'évasion tumorale se retrouvent bien souvent également responsables de la résistance aux inhibiteurs du PD-(L)1.

2.2.1.1 La voie *PTEN-PI3K*

PTEN est un gène suppresseur de tumeur qui contribue à réguler négativement l'activation de la voie de signalisation PI3K-Akt-mTOR (27). Lorsqu'elle est active, cette cascade a un rôle important dans la survie, la prolifération et la mobilité des cellules tumorales. La protéine mTOR serait impliquée dans la surexpression adaptative du PD-L1 induite par l'IFN γ et dans la voie oncogénique, ce qui pourrait justifier la combinaison d'un inhibiteur de mTOR aux inhibiteurs du PD-(L)1 dans le contrôle de l'immunoévasion et de la résistance au traitement (256). L'activation de mTOR peut être notamment attribuée à la perte de l'expression de *PTEN*, qui a été corrélée à l'augmentation de l'expression du PD-L1 dans le glioblastome, le cancer colorectal et le CBNPC (128,257,258). La surexpression du PD-L1 peut être également liée à la mutation *PIK3CA*, qui implique une altération de la sous-unité catalytique α de la PI3K (259,260).

2.2.1.2 La voie *EGFR-Ras-Raf-MAPK*

La voie des MAPK est primordiale dans la régulation du cycle cellulaire (17,18). Cette cascade est fréquemment sujette à des mutations dans la cellule cancéreuse, qui impliquent *in fine* l'activation presque systématique des effecteurs les plus en aval. Le rôle de cette voie de signalisation dans la régulation du PD-L1 a été observé dans le myélome multiple, où l'inhibition génétique ou pharmacologique de MEK (une MAPK kinase), a été associée à la diminution de l'expression du PD-L1 (261). La protéine serait notamment impliquée dans la phosphorylation du facteur de transcription STAT1 induite par l'IFN γ . La présence du variant *MEK-DD* serait corrélée à une surexpression du PD-L1 et l'activation continue de la *Extracellular signal-Regulated Kinase* (ERK), une autre MAPK. Certains mélanomes développent une résistance à l'inhibition pharmacologique de BRAF et parviennent à surexprimer PD-L1 par la dérégulation de *JUN*, cible des MAPK, qui interagit avec STAT3

pour activer les gènes de transcription du PD-L1 (262). Dans le cancer du poumon, la détection de la mutation *KRAS* pourrait servir de cible à l'inhibition pharmacologique de l'expression du PD-L1 (263). Paradoxalement, dans le cancer du sein, l'inhibition seule de MEK serait corrélée à une augmentation de l'expression du PD-L1 tandis que l'inhibition combinée de MEK et du ligand aurait une activité anti-tumorale efficace (264). Cette étude montre également que l'activation de cette voie de signalisation serait associée à la diminution de l'infiltration tumorale par les TILs, et permettrait à la cellule de s'affranchir de la présentation antigénique en supprimant le CMH I et II. L'activation de cette cascade peut être directement liée à l'EGFR, qui est le récepteur à l'initiation de la transduction du signal lorsque lié à un facteur de croissance. Son activation continue, par exemple induite par une mutation, contribue par extension à l'activation des effecteurs en aval et donc à la surexpression du PD-L1 (265). L'inhibition de l'EGFR par des inhibiteurs aux tyrosines kinases permettrait par ailleurs de s'affranchir de l'expression du PD-L1 constitutive à la voie oncogénique mais aussi celle liée à l'IFN γ . L'inhibition de MEK serait également efficace pour contrecarrer l'activation de l'EGFR et ses conséquences sur l'expression du PD-L1. Des activations croisées par d'autres voies de signalisation sont possibles : dans le cancer du rein, la liaison de la tyrosine-protéine kinase c-MET, fréquemment surexprimée, à son ligand induirait l'activation de la voie Ras-Raf-MAPK dans le but de limiter l'apoptose, ce qui parallèlement stimulerait l'expression du PD-L1 (266).

2.2.1.3 *C-MYC, VHL et HIFs*

Dans le CBNPC, il a été démontré que l'expression de l'oncogène *c-MYC* serait corrélée à la surexpression du PD-L1 (267). Cet oncogène serait en mesure de lier directement le promoteur du gène *PD-L1* (268). Nous avons également vu dans le chapitre sur l'oncogénèse que la perte d'expression du gène suppresseur de tumeur *VHL* en particulier dans le carcinome à cellules rénales conduisait à l'activation et l'accumulation de HIF- α (87–89). Au-delà du rôle primordial de cette hypoxie induite dans l'angiogénèse et l'oncogénèse en général, il a été démontré que les HIFs seraient capable de lier un élément de réponse à l'hypoxie présent dans le promoteur du *PD-L1* et influencer directement son expression (89,269). En outre, il existerait des relations croisées entre l'oncogène *c-MYC* et les HIFs : l'accumulation de HIF-2 α potentialiserait la dérégulation de l'oncogène et exacerberait son activité transcriptionnelle (270). Nous avons également vu que la présence d'hypoxie pouvait être à l'origine de résistance aux inhibiteurs du PD-(L)1 (184).

2.2.1.4 Les gènes de fusion d'ALK

Le signal oncogénique porté par *ALK* et en particulier ses gènes de fusion avec la nucléophosmine (*NPM-ALK*) et l'échinoderme microtubule-associated protein like 4 (*EML4-ALK*) favoriserait l'expression de PD-L1, à travers l'activation de plusieurs des effecteurs précédemment mentionnés : MEK-ERK, Akt, STAT3 et l'induction de HIF-1 α (129,271,272).

2.2.1.5 Les facteurs de transcription

La voie oncogénique peut également impliquer les facteurs de transcription du gène *PD-L1*. La protéine activatrice 1 (AP-1), constituée de plusieurs sous-familles de protéines dont c-Jun, serait particulièrement recrutée dans le lymphome Hodgkinien et lors de l'infection par le virus oncogénique Epstein-Barr (EBV) (273). Egalement observée dans le lymphome, la présence de l'amplification 9p24.1 impliquerait une amplification des locus codant pour JAK2 et PD-L1, et donc l'expression constitutive du ligand par l'activation de la voie JAK-STATs (274). Cette voie est en principe impliquée dans la surexpression du PD-L1 à la suite de la stimulation par l'IFN γ . La mutation de JAK constitue l'un des mécanismes fréquemment observés dans l'absence de réponse aux signaux anti-prolifératifs et pro-apoptotiques libérés suite à l'action des inhibiteurs du PD-(L)1 (175).

Les facteurs nucléaires kappa B (NF- κ B) sont des facteurs de transcription fréquemment soumis à des mutations oncogéniques ou activés par des cytokines inflammatoires du microenvironnement (275). Quand ce signal est activé, par exemple par la mucine 1 surexprimée dans le CBNPC, la sous-unité p65 du NF- κ B est capable de se lier au promoteur du *PD-L1* et favoriser la transcription du ligand. NF- κ B est également un régulateur négatif de la voie extrinsèque de l'apoptose et son activation, induite par un signal oncogénique ou par le TNF α , peut contribuer à la résistance innée ou acquise aux inhibiteurs du PD-(L)1, à l'instar des mutations impliquant les caspases (176).

Les éléments listés ci-dessus ne sont pas exhaustifs, et l'impact oncogénique à l'origine de l'échappement tumoral et de la résistance thérapeutique continuent d'être étudiés. Il a également été démontré à plusieurs reprises qu'il n'y a pas de frontière stricte entre les mécanismes d'oncogenèse, de résistance immunitaire et de résistance thérapeutique, qui présentent de nombreux éléments communs, et en particulier les mutations d'oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs.

L'identification de ces mutations, en particulier lorsqu'elles induisent la surexpression du PD-L1, supporte indirectement l'efficacité des inhibiteurs du signal PD-(L)1 : c'est la mesure de l'expression du ligand lui-même qui constitue un marqueur validé à ce jour.

L'un des freins à la validation d'une de ces mutations comme biomarqueur prédictif est l'hétérogénéité des résultats quant à leur importance dans la régulation du ligand. L'inhibition thérapeutique de mTOR ne serait pas efficace dans le contrôle de l'expression du PD-L1 dans les cellules de mélanomes résistantes aux inhibiteurs de BRAF, ce qui traduirait une implication mineure de la voie PI3K-Akt-mTOR en comparaison à la voie Ras-Raf-MAPK dans ce cadre (262). Une autre étude réalisée dans le mélanome n'a pas été en mesure de démontrer une association significative entre les événements oncogéniques impliquant *BRAF*, *PTEN*, Akt et les différents niveaux de surexpression du PD-L1 (276).

L'identification de ces mutations est particulièrement intéressante dans l'évaluation des différents mécanismes de résistance possibles d'une manière générale. Dans ce cadre, l'analyse génétique sert surtout à orienter la décision thérapeutique, qui ne tourne pas nécessairement autour des seuls inhibiteurs du PD-(L)1 (264). Néanmoins, l'identification et la validation d'un biomarqueur prédictif parmi ces différents oncogènes reste cohérente et envisageable. L'analyse du profil génétique des patients et leur réponse au traitement à court et long termes pourraient permettre de conclure significativement quant au poids de chacune des voies de signalisation dans l'expression du ligand et dans la résistance ou non au traitement. De telles études pourraient contribuer à identifier des cartographies mutationnelles prédictives d'une résistance innée, tardive ou de l'absence de résistance, et de déterminer en fonction si le patient tirerait le plus de bénéfice d'un inhibiteur du PD-(L)1 seul, combiné ou d'une autre stratégie thérapeutique.

2.2.2 Charge mutationnelle et répertoire néoantigénique

2.2.2.1 Mutations somatiques et signatures mutationnelles

De nombreux facteurs peuvent être à l'origine de mutations somatiques qui favorisent l'oncogenèse : exposition à des agents mutagènes exogènes, instabilité génétique liée à l'altération des systèmes de réparation de l'ADN, altérations lors de la réplication du génome...(277). Plusieurs programmes génomiques internationaux ont permis de créer des catalogues de mutations somatiques identifiées dans plusieurs milliers d'échantillons tumoraux, et ces bases de données servent aujourd'hui de point de départ à de nouvelles recherches (278). La charge mutationnelle a été définie pour représenter le nombre de

mutations dans le génome étudié (279). Il existe une très grande variabilité de la prévalence des mutations somatiques au sein d'un même type de cancer, et entre les différents cancers (Figure 6) (277).

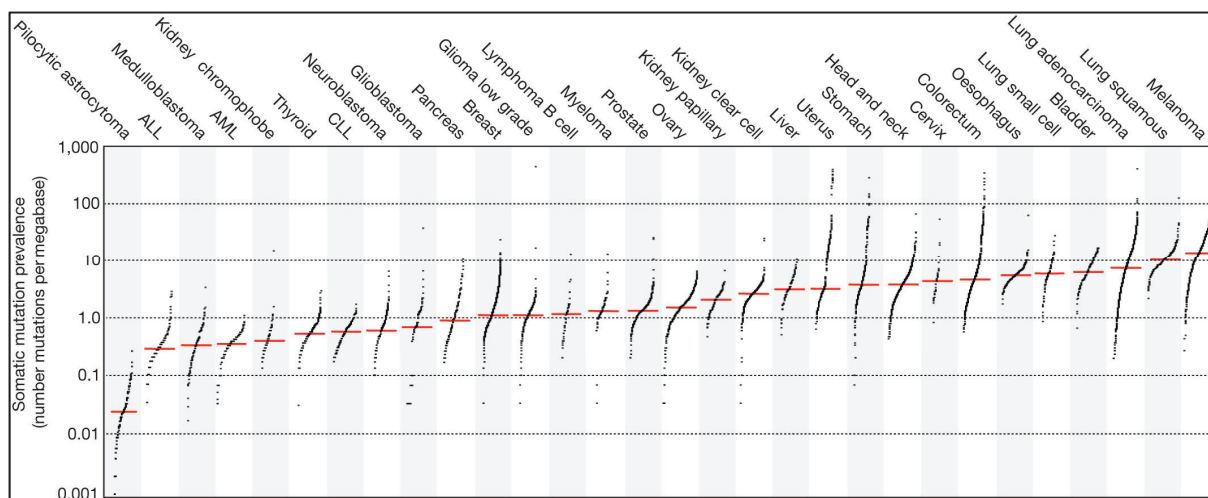


Figure 6 : Estimation de la charge mutationnelle par type de cancer. Les types de tumeurs sont rangés dans l'ordre croissant des nombres de mutations médian. Reproduction autorisée, d'après Alexandrov (277).

Les différents mécanismes induisant ces mutations sont variés et génèrent des combinaisons de mutations caractéristiques. Le projet mené par Ludmil Alexandrov en 2013 a permis d'identifier 21 signatures mutationnelles qui correspondent à la quantification des mutations associées aux six classes de substitutions de bases possibles (C>A, C>G, C>T, T>A, T>C, T>G). La prévalence de ces signatures a été évaluée, et certaines ont pu être associées à leur étiologie : âge, déficit en système de réparation de l'ADN, rayons ultraviolets, agents alkylants mutagènes etc. Ces signatures ont pu être utilisées ensuite pour établir un profil mutationnel par type de cancer (Figure 7). On remarque que la plupart des cancers sont composés en principe de deux signatures mutationnelles majoritaires, mais certaines histologies présentent un nombre de signature plus élevé, traduisant une plus grande complexité dans le processus mutationnel. La signature 1B liée à l'âge est par exemple partagée par l'ensemble des types de cancers analysés. Par définition, on estime que les cancers les plus mutés sont ceux exposés chroniquement à des agents mutagènes. Cette déduction se vérifie également d'un point de vue génomique puisque la signature 4 associée au tabagisme est prédominante dans le cancer du poumon et la signature 7 associée aux rayons ultraviolets est prédominante dans le mélanome. Ces signatures ont également un intérêt pronostique puisqu'elles sont plus représentatives de l'exposition réelle aux agents mutagènes que l'anamnèse menée chez le patient. Cette première classification taxonomique

continue d’être affinée et complétée au fil des recherches. Les nouvelles données sont davantage focalisées par type de cancer, en particulier sur ceux largement impactés par des mutations héréditaires et somatiques comme le cancer du sein (280,281).

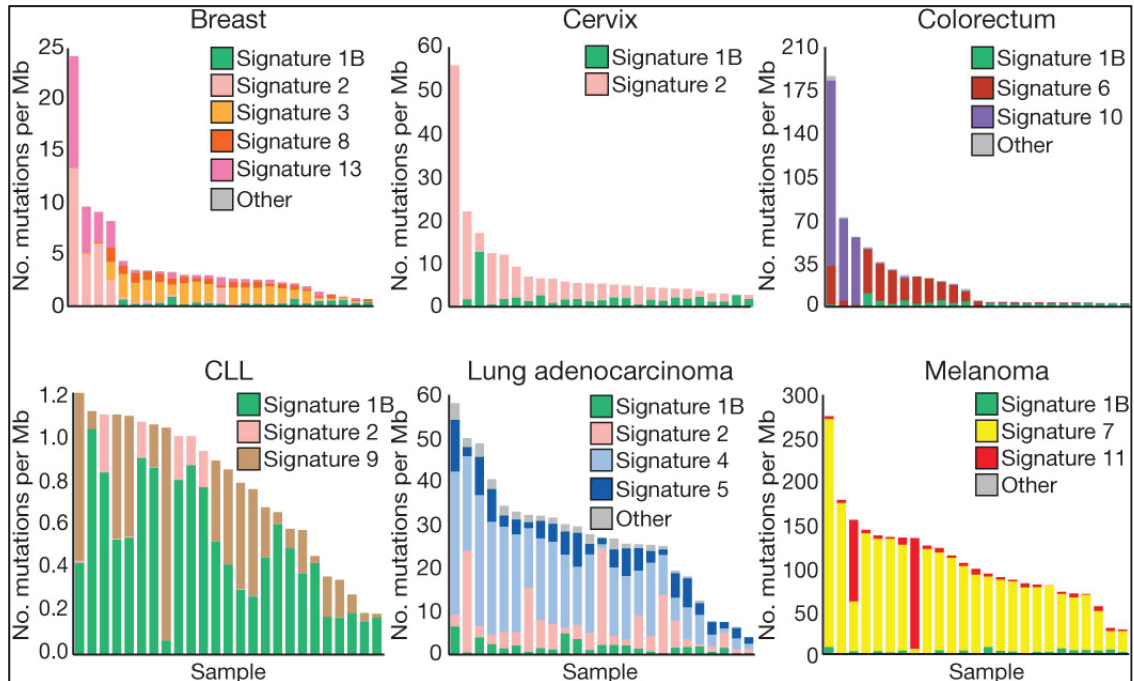


Figure 7 : Signatures mutationnelles observées par type de cancer. Charge mutationnelle et répartition des signatures mutationnelles par type de cancers et par échantillon d’un même type tumoral. Reproduction autorisée, d’après Alexandrov (277).

2.2.2.2 Potentiel prédictif de la charge mutationnelle sur l’efficacité des immunothérapies

2.2.2.2.1 Lien avec la charge néoantigénique

Les mutations de l’ADN peuvent être transcrites et traduites en peptides oncogéniques porteurs d’épitopes impliqués dans la présentation par le CMH I (282–284). Ces antigènes associés à la tumeurs, appelés néoantigènes, constituent une population distincte des antigènes constitutifs du soi qui sont non mutés. Lors de la présentation par le CMH I, certains néoantigènes sont reconnus comme du « non soi », ce qui conduit à l’activation des lymphocytes T CD8⁺ et CD4⁺. L’évolution clonale est ensuite à l’origine de l’augmentation du nombre de néoantigènes, qui induisent l’activation en continue de la réponse immunitaire anti-tumorale (240,283). En exprimant des points de contrôle immunitaire, la tumeur parvient à supprimer cette réaction anti-tumorale générée par les néoantigènes. On estime que les cancers présentant une charge mutationnelle médiane supérieure à 10 mutations par mégabase généreraient fréquemment de ces néoépitopes (Figure 8) (285,286). Compte tenu

de la réaction immunitaire anti-tumorale sous-jacente, les cellules possédant une charge mutationnelle et néoantigénique élevées seraient donc les plus susceptibles de tirer bénéfice des inhibiteurs du PD-(L)1.

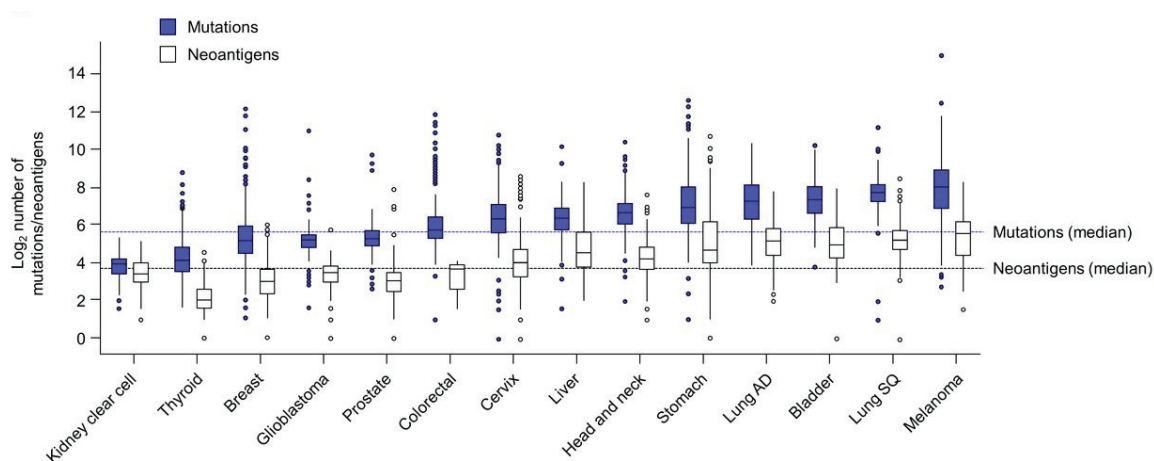


Figure 8 : Charge mutationnelle et prédiction de la charge néoantigénique correspondante par type de tumeur. AD = adénocarcinome ; SQ = carcinome à cellules squameuses. Reproduction autorisée d'après Büttner (286), adapté de Chen (285).

2.2.2.2.2 Corrélation entre la charge mutationnelle et l'efficacité des immunothérapies

La première démonstration de la corrélation entre la charge mutationnelle et la réponse aux inhibiteurs des points de contrôle immunitaire a été faite sur des mélanomes traités par ipilimumab (287,288). L'exome des différentes tumeurs analysées a pour cela été entièrement séquencé. Bien que la charge mutationnelle soit positivement corrélée à l'efficacité du traitement, les résultats de l'étude montrent qu'elle ne constitue pas à elle seule un marqueur parfaitement sensible de l'efficacité thérapeutique. Certaines tumeurs présentant pourtant un nombre de mutations élevé n'avaient pas répondu au traitement. En revanche, la présence d'une signature néoantigénique particulière a été observée chez l'ensemble des patients répondeurs de l'étude. Des observations similaires ont été faites dans le traitement du CBNPC par pembrolizumab (279). Dans la première cohorte analysée, 73% des patients avec une charge mutationnelle élevée, c'est-à-dire supérieure à la médiane de 209 mutations sur l'exome entier, ont eu un bénéfice clinique durable, contre seulement 13% de ceux avec une charge mutationnelle basse ($p=0,04$). Le taux de réponse objective était de 63% contre 0% ($p=0,03$), et la survie sans progression médiane de 14,5 mois contre 3,7 mois, ce qui correspond à un *hazard ratio* de 0,19 ($p=0,01$). Ces données ont été confirmées dans

la cohorte de validation, en appliquant une valeur seuil de 178 mutations non synonymes. Toutefois, l'association observée entre le nombre de mutations et la réponse au traitement serait surtout portée par la charge néoantigénique, identifiée avec une médiane de 112 néoantigènes par tumeur, qui serait fortement liée à la charge mutationnelle.

Enfin, l'impact de la charge mutationnelle a également été évalué rétrospectivement sur les patients de l'étude Checkmate 032 traités par nivolumab en monothérapie ou combiné à ipilimumab pour leur cancer bronchique à petites cellules (289). Trois groupes de patients ont été analysés selon leur charge mutationnelle (0 à 142 mutations, 143 à 247 mutations et à partir de 248 mutations sur l'exome entier). Les résultats montrent un bénéfice supérieur pour les deux bras de traitements chez les patients avec une charge mutationnelle élevée, toutefois en faveur de la combinaison.

Le séquençage de l'exome entier a été utilisé dans la plupart des études initiales ayant démontré le potentiel prédictif de la charge mutationnelle sur l'efficacité des inhibiteurs des points de contrôle immunitaire. Cependant, son manque de faisabilité en routine constitue une contrainte au développement de la charge mutationnelle comme biomarqueur. En 2018, une étude a été réalisée avec un panel ciblé de gènes et une technique de séquençage nouvelle génération pour évaluer l'impact de la charge mutationnelle sur la réponse aux inhibiteurs du PD-(L)1 (290). Les patients présentant une réponse clinique durable possédaient une médiane de 8,5 mutations par mégabase d'ADN ciblé et les patients non répondeurs à l'inhibiteur du PD-1 une médiane de 6,6 mutations par mégabase ($p=0,006$). Une différence significative en nombre médian de mutations par mégabase a été retrouvée entre les patients présentant une réponse complète ou partielle (8,5), les patients en maladie stable (6,6) et ceux en progression (6,6 ; $p=0,049$). La distribution du nombre de mutations dans les différents échantillons tumoraux a été représentée par des *box-plots*. La survie sans progression et la durée du bénéfice clinique seraient augmentées à partir de la valeur de charge mutationnelle correspondant à la médiane. L'étude a également montré une corrélation entre la charge mutationnelle évaluée par la technique de capture par hybridation MSK-Impact et celle évaluée par le séquençage de l'exome entier. Une étude évaluant atezolizumab après une ligne de chimiothérapie dans le carcinome urothélial a intégré une analyse génomique exploratoire dans son protocole, et avait pour cela utilisé la technique de profilage génomique (291). Des résultats similaires ont été observés quant à l'augmentation du bénéfice clinique avec la charge mutationnelle, et avec une précision comparable à la technique du séquençage de l'exome entier.

La charge mutationnelle et l'expression du PD-L1 sont deux variables indépendantes (292). Compte tenu de la sensibilité et spécificité imparfaites mais comparables des deux marqueurs, l'élaboration d'un marqueur composite pourrait contribuer à améliorer la détection des patients et la décision thérapeutique. L'étude Checkmate 227 constitue la première étude prospective à avoir inclus la charge mutationnelle comme critère de jugement (293). Cet essai clinique évaluait la combinaison nivolumab plus ipilimumab dans le CBNPC avec une charge mutationnelle élevée (au moins 10 mutations par mégabase). Il est inclus une analyse en sous-groupes stratifiée selon l'expression du PD-L1. Les résultats montrent que les patients possédant une expression faible du ligand (inférieur à 1%) tireraient quand même bénéfice de la combinaison d'immunothérapies. Cette efficacité serait donc liée à la charge mutationnelle élevée et l'analyse combinée des deux marqueurs permettraient d'identifier parmi les patients PD-L1 négatifs de potentiels répondeurs.

2.2.2.3 *Développement comme biomarqueur*

2.2.2.3.1 Validité des données

Le premier frein au développement de la charge mutationnelle comme biomarqueur vient de la validité des données. La plupart des résultats ont été obtenus rétrospectivement sur des échantillons provenant de cohortes d'essais cliniques prospectifs, ou sont issues d'analyses exploratoires ne permettant pas la validation statistique des tendances observées. De ce fait, il est nécessaire de vérifier les observations existantes pour les différents agents dans des études prospectives validées statistiquement sur des cohortes de patients, comme l'étude Checkmate 227 pour nivolumab (293).

2.2.2.3.2 Standardisation du système de mesure

Le deuxième frein est l'absence de standardisation du système de mesure, qui se retrouve à plusieurs niveaux.

La charge mutationnelle peut s'exprimer de deux façons selon la technique utilisée (294). La mesure en nombre de total de mutations sur l'exome implique le séquençage entier des séquences codantes de l'ADN, qui correspond à la technique de référence. Il s'agit cependant d'une technique onéreuse et fastidieuse nécessitant un échantillon tumoral conséquent couplé à un échantillon sain pour comparaison, ce qui la rend peu applicable en pratique clinique. Aujourd'hui, on tend à utiliser des techniques de séquençage nouvelle

génération, ciblées sur un panel de gènes, comme la capture par hybridation MSK-Impact ou le profilage génomique FoundationOne (295,296). On exprime alors la charge mutationnelle en nombre de mutations par mégabase d'ADN ciblé. L'avantage de ces techniques est qu'elles contribuent, en plus de mesurer la charge mutationnelle, à détecter des mutations d'oncogènes spécifiques et des réarrangements caractéristiques de certains cancers. Les gènes pertinents ont été identifiés et validés par plusieurs études. Le programme *The Cancer Genome Atlas* a notamment réalisé une analyse intégrative des données « omiques » de douze types de tumeurs issues de plusieurs milliers de patients (297). Ce type de projet permet d'identifier les gènes et caractéristiques moléculaires pilotes de l'oncogenèse et de les caractériser dans chaque type tumoral pour adapter la recherche de mutations selon le profil. L'application de la technique de capture par hybridation sur de nombreux types tumoraux a permis également d'identifier de nouvelles signatures mutationnelles, définir leur degré de fréquence et démontrer la faisabilité à large échelle de cette technique de séquençage (298).

Les gènes ciblés (et leur nombre) peuvent varier entre les panels, ce qui peut rendre discutable l'interprétation des données et la comparaison d'une étude à l'autre. La définition de la charge mutationnelle diverge selon les outils. Avec le séquençage par panels de gènes, la mesure inclut les mutations somatiques des régions codantes de l'ADN, mais certains tests considèrent uniquement les mutations non synonymes, alors que d'autres comme le FoundationOne incluent également les mutations synonymes (286). Il semblerait que l'association entre la charge mutationnelle et les immunothérapies soit plus forte lorsque le panel utilisé n'inclut que des mutations non synonymes (299). Toutefois, l'estimation de la charge mutationnelle pourrait être faussée si seules les mutations non synonymes sont considérées lorsque le panel utilisé est de petite taille. La spécificité et sensibilité de la mesure dépendent en effet non seulement des gènes sélectionnés mais également de la taille du panel utilisé. L'étude qui a initialement montré la corrélation entre la réponse au pembrolizumab et la charge mutationnelle a procédé à la comparaison des données obtenues par séquençage nouvelle génération à celles obtenues par la technique de référence (279). Les résultats suggèrent que le panel doit être de taille suffisante pour fournir une mesure comparable. L'étude qui évalue la technique de profilage génomique montre par exemple qu'une taille minimum de 0,5 mégabase est nécessaire (296). Une autre étude analysant l'impact de la taille du panel montre qu'un panel inférieur à 1 mégabase détecte les charges mutationnelles « basses » avec un intervalle de confiance large, qui ne permet pas d'exclure

une charge de 10 mutations par mégabase pourtant considérée comme « haute » (300). De ce fait, la précision de la mesure diminue et ne permet pas de caractériser les phénotypes non hypermutés. L'augmentation de la taille à 1,5 mégabase permet de diminuer considérablement la variance des résultats et leur intervalle de confiance. Paradoxalement, l'impact sur la variance est plus modéré lorsque la taille du panel est augmentée de 1,5 à 5 mégabases.

Il est également nécessaire de prendre en considération d'autres facteurs limitants liés à l'aspect technique : les différents outils de bio-informatique, les algorithmes, ou encore la validation des échantillons pour s'assurer que les mutations sont réelles et non liées à la méthode de prélèvement. Le séquençage entier de l'exome et la technique MSK-Impact requièrent en outre un échantillon apparié contrôle donc sain, ce qui constitue une problématique d'ordre éthique et légal qui dépasse le cadre de l'oncologie lorsqu'il s'agit d'identifier des mutations héréditaires (301).

Enfin, à l'instar de l'expression du PD-L1, la charge mutationnelle est une variable continue qui requiert donc la définition d'une valeur seuil pour être interprétable et développée comme biomarqueur. Ce seuil correspond à la valeur la plus sensible et la plus spécifique pour établir une conclusion quant à sa corrélation avec le bénéfice clinique. La valeur de la charge mutationnelle « haute » n'est cependant pas la même selon les études. Différentes méthodes sont utilisées pour la définir, et il n'y a pas de consensus à ce jour. Par ailleurs, elle dépend de la technique utilisée, puisque l'unité n'est pas la même. Les études utilisant le séquençage de l'exome entier ont utilisé le nombre médian de 158 mutations pour l'étude sur nivolumab, et de 178 mutations dans la cohorte de validation pour l'étude sur pembrolizumab (279,289). Avec la capture par hybridation MSK-Impact, un seuil de 7,4 mutations par mégabase a été utilisé et correspond également au nombre médian de mutations (290). Il est également possible d'utiliser le 75^{ème} percentile du *box-plot* qui représente la distribution des valeurs individuelles de charge mutationnelle dans l'étude (302). Un seuil de 10 mutations par mégabase a été utilisé dans l'étude Checkmate 227, qui utilisait pour cela le profilage génomique par FoundationOne CDx, et ce seuil a été défini avec une courbe ROC (277,293). Il s'agit donc du seul seuil validé dans les règles pour prédire l'efficacité du nivolumab, et qui correspond à environ 200 mutations sur l'exome. D'autres valeurs seuils sont nécessaires si l'on veut utiliser des valeurs de charge mutationnelle intermédiaires.

2.2.2.3.3 Tests développés et techniques émergentes

Pour la pratique clinique, deux tests sont actuellement approuvés. Le test FoundationOne CDx est approuvé comme test compagnon par la FDA pour mesurer la charge mutationnelle dans le cadre du protocole de certaines thérapies ciblées (303). Ce dispositif médical de diagnostic *in vitro* a montré son efficacité dans le cadre d'immunothérapies par inhibition du signal PD-(L)1 et a été validé dans une étude de phase 3 (293). La FDA a également autorisé l'utilisation du test MSK-Impact (304). Toutefois, la charge mutationnelle n'est pas reconnue *stricto sensu* comme un biomarqueur prédictif validé pour les inhibiteurs du PD-(L)1. D'autres tests sont également disponibles, mais sont utilisés uniquement dans le cadre de la recherche (305,306).

Enfin, deux techniques d'analyses émergentes consisteraient à mesurer la charge mutationnelle à partir de l'ADN circulant dans le sang ou à partir de biopsies liquides. La charge mutationnelle de l'ADN circulant dans le sang serait corrélée à une amélioration de la survie sans progression chez les patients traités par atezolizumab dans le CBNPC (307). Les résultats de cette étude montrent que les charges mutationnelles sanguines et tissulaires partagent 60% de variants : seuls les polymorphismes sur un seul nucléotide peuvent être détectés dans le sang, tandis que l'analyse tissulaire permet également de détecter les insertions et délétions. Cette technique représente une alternative non-invasive intéressante, en particulier dans le cadre de tumeurs où l'obtention de matériel tumoral constitue une problématique. Dans l'analyse en sous-groupes stratifiée selon l'expression du PD-L1, les patients qui bénéficieraient le plus de l'atezolizumab seraient sans surprise ceux présentant une charge mutationnelle sanguine élevée (d'au moins 16 selon le seuil établi) et une expression élevée du PD-L1 (de niveau 3 sur les cellules tumorales ou de l'immunité). Il y aurait également une tendance en faveur de l'efficacité de l'atezolizumab chez les patients avec une charge mutationnelle élevée, mais une expression du PD-L1 faible ou inexistante. Des outils utilisant le séquençage nouvelle génération ont été développés dans cet intérêt et sont en cours de validation dans une étude de phase 3 (308). L'analyse des cellules libres à partir de biopsie liquide est également à l'étude mais les résultats sont partagés : certaines études montrent une bonne concordance des résultats avec ceux obtenus par séquençage de l'exome entier, d'autres études estiment que cette technique est moins sensible (309,310).

2.2.2.4 Valeur prédictive de phénotypes particuliers

Le développement de la charge mutationnelle comme biomarqueur individuel présente, comme on l'a vu, plusieurs limites (311). La sensibilité et spécificité imparfaites des seuils utilisés engendrent un chevauchement entre certains patients répondeurs ou non et ceux avec une charge mutationnelle faible ou élevée. Cependant, les analyses génomiques ont permis d'identifier d'autres marqueurs potentiels qui auraient une valeur prédictive de l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1. Combinée à la charge mutationnelle, la présence de ces phénotypes particuliers permettrait de mieux distinguer les patients répondeurs ou non que la charge mutationnelle seule n'a pas su discriminer.

L'altération d'oncogènes ou gènes suppresseurs de tumeurs pilotes de l'oncogénèse a une incidence majeure sur l'expression du PD-L1 et la résistance ou la réponse au traitement. De ce fait, la recherche de ces mutations spécifiques, vues dans le chapitre 2.2.1, est effectuée en parallèle de l'évaluation de la charge mutationnelle. Cependant, des altérations de différentes natures peuvent impacter ces gènes d'intérêt, sur différents domaines d'activité et induire des phénotypes variés (311). La délétion homozygote de *PTEN* serait exclusivement retrouvée dans les tumeurs avec une résistance intrinsèque à l'immunothérapie, alors que la troncature clonale bi-allélique de *PTEN* n'aurait pas une association si marquée avec la progression de la maladie. Certaines mutations clonales peuvent permettre de prédire la réponse aux inhibiteurs du PD-(L)1 pour de multiples tumeurs : *PIK3CA* et *KRAS* seraient retrouvées chez les patients bons répondeurs ou en réponse partielle, tandis que le mutant *EGFR* serait retrouvé chez des patients en progression. On peut également identifier des tendances mutationnelles si on se concentre sur le type de cancer : *PIK3CA* serait par exemple retrouvée dans les mélanomes, cancers de la vessie ou cancers anaux avec des réponses complètes ou partiels aux inhibiteurs du PD-(L)1, mais serait retrouvée dans le cancer du poumon chez les patients en progression. Par ailleurs, dans l'adénocarcinome pulmonaire, l'évaluation de la mutation de plusieurs gènes comme *KRAS* et les gènes suppresseurs de tumeurs *TP53* ou *sérine thréonine kinase 11 (STK11)/LKB1* permettrait de définir des sous-groupes de mutants (312). L'inactivation de *STK11* est associée à un profil immunitaire non inflammatoire, une diminution de l'expression du PD-L1 et serait retrouvée parmi les mutants *KRAS* dans les cas de résistance primaire aux inhibiteurs du PD-1. En revanche, la mutation simultanée de *KRAS* et *TP53* serait corrélée à une bonne efficacité du nivolumab. Le carcinome à cellules rénales a un

profil particulier puisqu'il est en principe bon répondeur aux inhibiteurs du PD-(L)1 grâce à son profil très inflammatoire, mais possède une charge mutationnelle basse en comparaison aux autres cancers bon répondeurs (voir chapitre 2.3.2). Pourtant, deux gènes caractéristiques sont fréquemment mutés, *VHL*, responsable de l'augmentation de l'hypoxie, et le *polybromo 1 (PBRM1)*, qui code pour des complexes de remodelage de la chromatine. L'inactivation de ce deuxième gène serait corrélée à l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1, tandis que la charge mutationnelle ne présenterait pas d'association avec la réponse au traitement (313).

L'hétérogénéité intra-tumorale est un facteur confondant additionnel (314). Cette hétérogénéité est caractérisée par les mutations dites subclonales qui, contrairement aux mutations clonales, ne se retrouvent pas dans l'ensemble des cellules tumorales. Bien que les néoantigènes subclonaux participent à la charge néoantigénique totale, il apparaît que ces mutations seraient plus nombreuses chez les patients peu répondeurs aux immunothérapies (311,314). La présence de mutations subclonales serait plutôt caractéristique de l'exposition à des agents alkylants.

L'aneuploïdie a été identifiée comme étant à l'origine de faux positifs lors de l'analyse de la charge mutationnelle et la prédiction de l'efficacité des immunothérapies (315). La présence de cette altération est corrélée à l'augmentation de la charge mutationnelle. Elle serait également associée à l'augmentation de la signature « cycle cellulaire », composée de marqueurs de prolifération. En revanche, elle serait associée à la diminution de la signature inflammatoire, qui se traduit notamment par une réduction de l'infiltration tumorale par les cellules cytotoxiques de l'immunité et l'augmentation des macrophages M2 associés à la tumeur. La variabilité dans le nombre de copies des gènes est donc liée à l'immunoévasion. Dans le mélanome, malgré une charge mutationnelle élevée, la présence d'aneuploïdie a notamment montré une corrélation négative avec l'efficacité de l'ipilimumab (241,288). L'impact de la variabilité du nombre de copies dépend également des gènes impactés. La résistance primaire à l'ipilimumab dans le mélanome serait par exemple induite par l'aneuploïdie impactant les gènes impliqués dans le signal médié par l'IFN γ (316).

Certaines signatures mutationnelles ont également une valeur prédictive. La signature moléculaire associée au tabagisme est en partie basée sur le taux de substitution de cytosine en adénine dans l'ADN, la signature « fumeur » étant considérée comme ayant un taux de

substitution élevé, et la signature « non-fumeur » un taux de substitution bas (279). Les patients possédant la signature « fumeur » répondraient mieux au traitement par pembrolizumab, avec un taux de réponse objective de 56% (contre 17% chez les « non-fumeurs » ; $p=0,03$) et un bénéfice clinique durable de 77% (contre 22% ; $p=0,004$). La survie sans progression médiane n'est pas atteinte chez ces patients à la date de l'analyse, et est de 3,5 mois chez les patients « non-fumeurs » ($p=0,0003$). La même analyse a été réalisée à partir de l'anamnèse du tabagisme des patients. Pour cela, ceux ayant déjà fumé et ceux n'ayant jamais fumé avaient été comparés, ainsi que les patients gros fumeurs et ceux plus modérés (avec une valeur seuil de 25 paquet-année). L'anamnèse n'a cette fois pas été en mesure de distinguer clairement les patients qui bénéficieraient le plus du traitement. Ces données témoignent en faveur de l'efficacité du pembrolizumab chez les patients atteints de CBNPC porteurs de la signature mutationnelle associée au tabagisme. Cette signature serait également associée à une charge mutationnelle élevée, une hétérogénéité intra-tumorale basse, et une augmentation de la mutation de *KRAS* dans le cancer du poumon (311). Chez les « non-fumeurs », ce serait la mutation d'*EGFR* qui serait prédominante, avec une charge mutationnelle faible mais un nombre de mutations subclonales plus conséquent, ce qui est cohérent avec les faibles taux de réponse observés chez ces patients.

L'étude évaluant l'efficacité d'atezolizumab dans le traitement du carcinome urothélial a également évalué l'impact de la présence d'une signature immunologique T effecteur, composée des plusieurs gènes codant pour l' $IFN\gamma$, des chimiokines, et PD-L1 (291). La présence de cette signature traduit un statut immunologique inflammatoire de la tumeur qui serait également fortement corrélé à l'efficacité de l'atezolizumab dans le traitement du CBNPC (317,318). Nous verrons dans le chapitre 2.3.2 dédié aux marqueurs de l'inflammation que la signature inflammatoire semble d'une manière générale indispensable à l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1.

Le complexe des antigènes de leucocytes humains (HLA) a également son importance dans la prédiction de l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1 (319). Dans le mélanome, le polymorphisme des trois loci du HLA de classe I serait associé à une augmentation de la survie après immunothérapie, en comparaison des patients homozygotes pour au moins un des loci. L'effet est encore plus important lorsque la charge mutationnelle est élevée. Des supertypes de HLA ont également été observés, comme l'allèle HLAB44 qui serait associée à une meilleure efficacité des inhibiteurs des points de contrôle immunitaire dans le

mélanome. Par extension, lors de l'immunoévasion, la perte de l'hétérozygotie des gènes codant pour le HLA de type I a un impact sur l'efficacité du traitement.

Comme on l'a vu, l'instabilité génomique liée à la cancérogenèse peut être à l'origine d'altérations dans la machinerie du génome qui se traduisent par des phénotypes hypermutés. Des anomalies dans le système de réplication de l'ADN sont principalement causées par une mutation des gènes codants pour les ADN polymérase epsilon (*POLE*) et delta 1 (*POLD1*) (320). La mutation du domaine exonucléase de ces enzymes engendre un phénotype hypermuté voire ultramuté, où l'on peut parfois observer plus de 100 mutations par mégabase d'ADN. On distingue également les altérations intervenant sur le système de réparation de l'ADN (296). Ces mutations se traduisent par la signature mutationnelle de l'instabilité microsatellitaire et le déficit en système de réparation des mésappariements qui feront l'objet du chapitre suivant. Toutefois, ces altérations restent des événements relativement rares. Dans les cancers ayant la charge mutationnelle la plus élevée, la mutation de *POLE* est par exemple retrouvée dans moins de 3% des cancers du poumon, et l'instabilité microsatellitaire dans moins de 1% des mélanomes et cancers du poumon (321,322). L'altération de ces systèmes ne constitue donc pas la seule explication de la charge mutationnelle élevée dans certains types de cancers.

2.2.3 Déficit en système de réparation des mésappariements et instabilité microsatellitaire

Le système de réparation des mésappariements de l'ADN comprend les gènes humains *MutS homolog 2* et *6* (*MSH2* et *MSH6*), *MutL homolog 1* (*MLH1*), et *post-meiotic segregation 2* (*PMS2*), qui interviennent en cas d'erreurs lors de la réplication afin de garantir l'intégrité du génome (323,324). Ce système contribue en outre à contrôler les recombinaisons inter-chromosomiques au niveau des télomères (325).

La perte d'un ou plusieurs des gènes de ce système ou encore l'hyperméthylation du promoteur du *MLH1*, résultent en une défaillance du processus de réparation de l'ADN, qui se traduit donc par l'apparition d'un nombre important de mutations somatiques non réparées. Cette altération est à l'origine du syndrome de Lynch, une forme héréditaire du cancer colorectal, et se retrouve également de façon notable dans les formes sporadiques du cancer colorectal, du cancer de l'endomètre et du cancer gastrique en particulier (323,324,326).

Le déficit en système de réparation des mésappariements de l'ADN (MMRd) implique par extension une grande probabilité de présenter des mutations dans les séquences répétées de l'ADN (277). La présence d'une signature mutationnelle caractéristique, constituée d'un nombre conséquent de petites substitutions, d'insertions et de délétions sur ces séquences répétées, est associée à un phénotype tumoral hypermuté appelé instabilité microsatellitaire (MSI).

Plusieurs études ont démontré que les tumeurs ayant une MSI présenteraient un microenvironnement particulièrement inflammatoire en comparaison aux tumeurs à séquences microsatellites stables : augmentation des TILs, en particulier des lymphocytes T cytotoxiques et des lymphocytes auxiliaires Th1, et augmentation de l'expression de points de contrôles immunitaires (327,328). Ce profil s'explique notamment par l'élévation de la charge mutationnelle et de la quantité de néoantigènes associés aux mutations. Ces données ont permis de supposer que les tumeurs avec MMRd ou MSI élevés pourraient répondre favorablement aux inhibiteurs du signal PD-(L)1 et que la présence de ces altérations génomiques pourrait en outre constituer un marqueur prédictif de leur efficacité.

Lors de deux essais cliniques, le pembrolizumab a été administré à des patients ayant un cancer avec MSI et en progression après deux lignes de traitement. L'étude KEYNOTE 158 portait sur les types de tumeurs autres que colorectales, et l'étude KEYNOTE 164 exclusivement sur les tumeurs colorectales (329,330). Les données de ces études ont conduit la FDA à accorder en 2017 une AMM agnostique au pembrolizumab (c'est-à-dire pour une indication indépendante de l'histologie ou de la localisation de la tumeur) dans le traitement des tumeurs porteuses de MMRd et/ou MSI élevés (331). L'efficacité du nivolumab a également été évaluée, seul ou combiné à ipilimumab dans l'étude Checkmate 142, chez des patients atteints de cancer colorectal avec MMRd et/ou MSI élevés ayant progressé après le triplet de chimiothérapie fluoropyrimidine, oxaliplatine et irinotécan (332,333). Le nivolumab en monothérapie et l'ipilimumab en combinaison avec nivolumab ont bénéficié en 2017 et 2019 d'une extension d'AMM par la FDA dans cette indication (334,335). L'utilisation d'inhibiteurs du PD-1 dans le traitement de cancers avec MMRd ou MSI n'est pas une indication approuvée par l'EMA à ce jour.

Le potentiel prédictif des MSI a été pour la première fois évalué sur des tumeurs traitées par pembrolizumab (336). Cet essai mettait particulièrement en évidence les tumeurs colorectales, qui présentent généralement des taux de réponse plutôt faibles aux inhibiteurs du PD-(L)1. Les trois cohortes de l'étude étaient donc constituées des tumeurs colorectales

avec MSI, sans MSI, et des tumeurs avec MSI autres que colorectales (endomètre, duodénum et ampoule de Vater). Quarante pourcents des patients atteints de cancer colorectal avec MSI ont présenté une réponse objective, et 71% des patients ayant une tumeur « autre » avec MSI ont également présenté une réponse objective. En revanche, les patients atteints d'une tumeur colorectale à microsatellites stables n'ont pas répondu au traitement. Le développement des MSI comme biomarqueur prédictif permettrait d'identifier, parmi les types de tumeurs considérés comme non répondeurs aux inhibiteurs du PD-(L)1, des sous-population de patients qui pourraient en tirer bénéfice compte tenu de leur phénotype mutationnel.

Le diagnostic de la MSI étant couramment réalisé en routine, son développement comme biomarqueur est de ce fait pertinent et accessible. Des lignes directrices définissent les critères des patients qui doivent être évalués (337). D'un point de vue technique, les méthodes de diagnostic sont plutôt variées et évolues avec le temps. Les lignes directrices de Bethesda (historiquement utilisées pour diagnostiquer les MSI) mentionnent un panel de cinq microsatellites de référence à évaluer par des techniques de réaction en chaîne par polymérase et électrophorèse capillaire comparant les ADN issus de tissus tumoraux et de tissus sains (338). Des seuils ont été définis : une différence de taille observée sur au moins deux microsatellites extraits du tissu tumoral par rapport au tissu sain traduit une MSI élevée. Lorsqu'un seul microsatellite est modifié, le phénotype est considéré comme MSI faible, équivalent à la stabilité microsatellitaire. Le *MSI analysis system* utilise le même procédé avec des marqueurs mononucléotides qui permettent de détecter des loci plus longs, ce qui les rend donc plus sensibles (339). Il est également possible de procéder au séquençage génomique ou de l'exome mais ces techniques sont surtout réalisées dans le cadre de recherches et non pas à visée diagnostique en pratique clinique (279,287). On utilise également l'analyse IHC des protéines codées par les gènes du système de réparation des mésappariements (340). Ces gènes codent pour des protéines qui fonctionnent en dimères, MLH1 étant associé à PSM2 et MSH2 étant associé à MSH6. En principe, les tumeurs ayant une perte d'expression du *MLH1* ont une perte d'expression concomitante du *PSM2*, et la perte du *MSH2* est associée à la perte de *MSH6*. En revanche, la perte d'expression du *MSH6* et du *PSM2* n'impliquent pas nécessairement la perte du gène codant pour leur protéine binôme. De ce fait, l'identification d'une mutation sur les protéines permet de déduire le profil mutationnel de la cellule tumorale. L'analyse IHC des protéines permet donc d'identifier les gènes mutés et serait également plus sensible que la seule analyse des

séquences microsatellites qui ne correspondent qu'à une partie des cellules avec MMRd. Un algorithme décisionnel existe dans le cadre du diagnostic des MMRd et/ou MSI dans le cancer colorectal, qui permet de catégoriser les patients selon différents profils et adapter la stratégie thérapeutique. Cet algorithme associe l'évaluation des MSI, les analyses IHC des protéines issues de gènes impliqués dans le système de réparation des mésappariements et la détection de la mutation *BRAF*.

Les MMRd ou MSI représentent donc des marqueurs de substitution pour l'évaluation de la charge néoantigénique associée aux mutations. Ces déficits sont cependant validés comme biomarqueurs prédictifs de l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1 uniquement par la FDA.

2.3 Biomarqueurs liés à l'hôte et à l'environnement

2.3.1 Le microbiome

2.3.1.1 *Les oncogènes viraux*

L'étude de l'impact paradoxal des microorganismes sur le cancer est un sujet plutôt ancien. La découverte de leur rôle anticancéreux a contribué au développement de la virothérapie avec notamment les toxines de Coley destinées à traiter le sarcome (341). Quant à leur rôle carcinogène, on estime aujourd'hui à 20% les cancers dont l'origine serait liée aux microorganismes (virus, bactéries et parasites), qui profiteraient d'une brèche persistante dans le tissu sain et de la perte continue de l'homéostasie tissulaire et microbienne pour influencer la carcinogenèse (342). Il est toutefois difficile d'établir avec certitude une corrélation positive entre la présence de ces microorganismes et le développement du cancer, en particulier dans les zones porteuses d'un microbiote dense comme la peau, l'appareil respiratoire, l'appareil digestif et le système génito-urinaire. Une dizaine de microorganismes ont pu être catégorisés par le Centre International de Recherche sur le Cancer comme étant carcinogènes chez l'homme : *Helicobacter pylori*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*, *Schistosoma haematobium*, les virus de l'hépatite B et C, le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le papillomavirus humain (HPV), le virus Epstein-Barr (EBV), l'herpès virus humain type 8 (HVH8), le polyomavirus à cellules de Merkel (MCPyV) et le virus T-lymphotropique humain 1 (HTLV-1) (343).

EBV, HPV, MCPyV, HTLV-1 et HVH8 sont des oncovirus capables de s'intégrer au génome de l'hôte, qu'il soit immunocompétent ou immunodéficient (344). Ces oncogènes viraux codent pour des oncoprotéines reconnues comme du non-soi (par exemple les protéines HPV-E6 et HPV-E7), et constituent donc des néoantigènes qui vont diriger l'oncogenèse et altérer la réponse immunitaire (345).

Certains cancers sont systématiquement associés à un oncogène viral, comme le cancer du col de l'utérus lié à HPV, le carcinome nasopharyngé lié à EBV, le sarcome de Kaposi induit par HVH8 ou encore le lymphome/leucémie à cellules T de l'adulte infecté par HTLV-1 (346–349). Pour d'autres types de cancers, les oncogènes viraux sont détectés dans une fraction de la population de patients. Il est donc envisagé par les chercheurs que la détection de ces virus pourrait contribuer à estimer la susceptibilité de réponse aux inhibiteurs du PD-(L)1, bien qu'à ce jour de telles conclusions n'aient pu être démontrées.

80% des carcinomes à cellules de Merkel sont infectés par MCPyV (350). Ces cancers possèdent une charge mutationnelle faible, contrairement à ceux non infectés par le virus, et 50% exprimeraient PD-1 sur les TILs et PD-L1 sur les cellules tumorales et macrophages infiltrant (351). On noterait également une augmentation de l'infiltration en lymphocytes T CD8⁺ et CD4⁺ spécifiques des antigènes du MCPyV (352). L'essai clinique qui a conduit à l'extension d'AMM du pembrolizumab dans le traitement du carcinome à cellules de Merkel a évalué l'efficacité du traitement dans la population totale de l'étude, mais aussi entre les patients porteurs ou non du virus (351,353). Bien que les différences d'efficacité observées entre les patients porteurs ou non du virus ne soient pas significatives, cette étude, ainsi que celle réalisée pour évaluer avelumab, confirment néanmoins que les inhibiteurs du PD-1 ou du PD-L1 puissent être efficaces dans le traitement de cancers viro-induits (351–353). La présence du virus pourrait donc d'une certaine manière contribuer à identifier les patients les plus susceptibles de répondre au traitement. Il est cependant difficilement imaginable avec les données actuelles de valider la présence du virus comme biomarqueur prédictif compte-tenu de l'efficacité du traitement également observée chez les patients non porteurs.

EBV contribuerait à la surexpression du PD-L1 dans les cellules Reed-Sternberg du lymphome Hodgkinien, en médiant le facteur de transcription AP-1 du gène *PD-L1* et également la voie JAK-STAT (273).

D'autres études ont été menées et ont évalué les différences d'efficacité entre les patients infectés ou non d'un oncovirus, notamment l'étude Checkmate 040 qui portait sur l'efficacité du nivolumab dans le carcinome hépatocellulaire et différenciait les patients

infectés par les virus de l'hépatite B ou C (354). L'étude de phase 3 subséquente a cependant échoué à démontrer son critère de jugement principal ce qui rend finalement caduques les conclusions précédentes (355).

Enfin, il a été observé que l'infection des cellules présentatrices d'antigènes par le VIH induirait une surexpression substantielle du PD-L1, en activant le signal porté par la PI3K (356).

2.3.1.2 Composition du microbiote intestinal

L'impact de la composition du microbiote intestinal en particulier sur l'évolution du cancer et sur la réponse au traitement fait l'objet d'analyses de métagénomique plus récentes. L'efficacité des anticorps anti-PD-L1 sur les tumeurs épithéliales murines a pu être corrélée à la présence du *Bifidobacterium* commensal (357). Cette étude a également suggéré que l'administration de *Bifidobacterium* combinée à la thérapie par inhibiteur du PD-L1 contribuerait plus efficacement au contrôle tumoral que la seule administration de l'anticorps anti-PD-L1.

Chez l'homme, plusieurs études confirment l'importance de la composition du microbiote intestinal dans la réponse aux inhibiteurs du PD-(L)1. Les conclusions quant à l'identification des microorganismes divergent parfois, ce qui se justifie principalement par des différences dans les caractéristiques des patients étudiés, notamment les types de cancers et la présence de facteurs confondants (génétiques, nutritionnels, géographiques...) (358). Chez les patients traités par inhibiteurs du PD-1, la grande diversité des microorganismes dans les fèces avant traitement et en particulier l'abondance de *Akkermansia muciniphila*, *Enterococcus hirae*, *Bifidobacterium longum* ou *adolescentis*, *Collinsella aerofaciens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Veillonella parvula*, *Parabacteroides merdae*, *Lactobacillus sp*, *Enterococcus faecium*, de *Ruminococcaceae* ou de *Faecalibacterium* a été positivement corrélée à l'amélioration de l'efficacité du traitement (190,359,360). En revanche, la faible diversité du microbiote ainsi que l'abondance de *Bacteroidales* constitueraient un profil microbiotique défavorable à l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1. Contrairement à son rôle clé dans l'efficacité de l'ipilimumab, il serait dans le cas présent impliqué dans la recrudescence de lymphocytes Treg et de MDSC dans le microenvironnement (191,359).

Plusieurs hypothèses ont été émises quant au mode d'action du microbiote dans le contrôle tumoral. Certaines bactéries dont *A. muciniphila* seraient porteuses d'épitopes

reconnus par des TCR spécifiques. Cette reconnaissance activerait la réponse cellulaire T et en particulier le recrutement de lymphocytes T CD4⁺ grâce à l'interleukine-12. Ces lymphocytes seraient porteurs du récepteur aux chimiokines CCR9 spécifique de l'intestin et seraient donc dirigés contre l'agent microbien (190,358). Ces cellules T porteuses du CCR9 peuvent contribuer à l'action des lymphocytes T CD8⁺ contre la tumeur en sécrétant des cytokines ou alors être impliquées dans une réaction croisée avec les antigènes spécifiques de la tumeur. Cette dernière hypothèse s'appuie sur la théorie du mimétisme moléculaire selon laquelle les microorganismes seraient en mesure d'exprimer des mimotopes, épitopes similaires à ceux du soi et donc reconnus par le même TCR, ce qui engendrerait des réactions croisées (361). Cette théorie explique notamment l'origine du développement de certaines maladies auto-immunes, ou au contraire comment *Bacteroides* parvient à inhiber le développement de colites immuno-induites par ipilimumab en ciblant les cellules dendritiques. *E. hirae* serait ciblé par des récepteurs de reconnaissance de pathogènes exprimés sur les cellules dendritiques, et induirait la sécrétion d'interleukine-12 et l'initiation de la réponse Th1 impliquée dans le contrôle tumoral (190). Les cellules dendritiques exposées au *Bifidobacterium* seraient plus actives dans leur rôle de présentation d'antigènes et stimuleraient davantage l'expression d'IFN γ (357). Une dernière hypothèse consisterait en la modulation du métabolisme de l'hôte par les bactéries, en générant notamment des polyamines impliquées dans la stimulation à distance de l'autophagie mais aussi dans la régulation des effets toxiques liés aux immunothérapies (362). Cette liste d'hypothèses est cependant non exhaustive, d'autres protéines ou métabolites ont pu être suggérés comme étant impliqués dans la relation entre le microorganisme et la cellule tumorale (358).

Compte tenu de l'impact du microbiote dans la réponse au traitement, une étude a été réalisée chez 121 patients atteints de carcinome à cellules rénales (CCR) et 239 patients atteints d'un CBNPC pour comparer les effets de l'antibiothérapie sur l'efficacité des immunothérapies (189). Les 13% de patients atteints de CCR exposés aux antibiotiques dans les trente jours précédant l'administration de l'immunothérapie présenteraient un risque accru de progression de leur maladie (75% de progression chez les patients traités par antibiotiques contre 22% chez ceux non traités), une diminution significative de la survie sans progression et de la survie globale. Des résultats similaires ont été observés dans la cohorte de patients atteints de CBNPC à l'exception d'une différence non significative entre les taux de progression. L'ensemble de ces données coïncident avec les observations

préliminaires obtenues *in vitro* ou lors d'analyses rétrospectives de cohortes de patients (190).

D'autres études sont maintenant nécessaires afin d'élucider les mécanismes régissant l'interaction entre le microbiote et la cellule tumorale et identifier les microorganismes impliqués. Le projet Oncobiome mené par l'institut Gustave Roussy réunit un consortium d'experts et a pour objectifs d'identifier et valider une signature microbiologique qui serait corrélée à l'évolution pronostique et/ou à la réponse thérapeutique, et caractériser l'interaction entre le microbiome, l'immunité et la tumeur (363). Ces données pourront être combinées aux signatures génétiques, cliniques, immunologiques et métaboliques déjà connues afin de créer un seul outil, validé comme biomarqueur pronostique et/ou prédictif utilisable en clinique pour supporter la décision thérapeutique. L'analyse du microbiote n'est donc pas validée comme biomarqueur, mais il existe néanmoins un consensus actuel : la diversité du microbiote et l'abondance de certains microorganismes seraient prédictifs de la réponse aux immunothérapies, et l'administration préalable d'antibiotiques engendrerait une dysbiose négativement corrélée à l'efficacité du traitement anticancéreux (190).

2.3.2 Marqueurs de l'inflammation

Grâce à la caractérisation du mécanisme de l'immunoédition et l'analyse histologique de tumeurs avant traitement, trois phénotypes immunitaires ont pu être déterminés. Ces profils permettent aujourd'hui de supposer de la susceptibilité de réponse à des catégories de traitement ou des combinaisons thérapeutiques (Figure 9) (364,365).

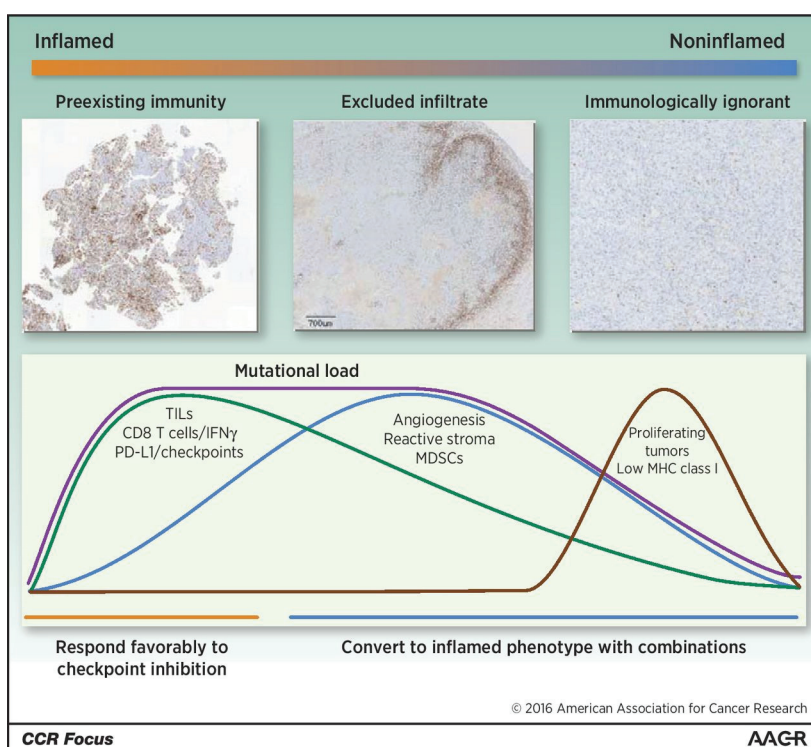


Figure 9 : Caractéristiques associées à la signature inflammatoire des tumeurs. Reproduction autorisée, d'après Hegde (366).

Les tumeurs ayant un phénotype inflammatoire, dites tumeurs « chaudes », sont immunogènes. Elles se caractérisent par une charge mutationnelle élevée et une forte infiltration par les cellules T CD8⁺ et CD4⁺. Ces lymphocytes induisent la libération de cytokines pro-inflammatoires et effectrices, dont l'IFN γ , qui stimule ensuite la surexpression du PD-L1 par les cellules de l'immunité et les cellules tumorales (367,368). En principe, ce phénotype traduit l'existence d'une réponse immunitaire qui aurait été interrompue par une immunosuppression. Ces tumeurs développent en effet de nombreuses barrières afin de contrecarrer la réponse immunitaire (Figure 10). On remarque de ce fait la présence de cellules immunosuppressives, de lymphocytes Treg nécessaires à l'homéostasie immunitaire, de TGF β , de marqueurs d'épuisement lymphocytaire et l'expression d'autres facteurs inhibiteurs. Une corrélation a été observée entre les patients bons répondeurs à l'immunothérapie et la présence de ce phénotype tumoral (155).

Les tumeurs avec exclusion de l'infiltration impliquent par définition le recrutement des cellules de l'immunité dans le stroma, mais l'absence d'infiltration dans les cellules tumorales. Il s'agit d'un état transitionnel vers l'immunoévasion : activité angiogénique accrue, synthèse en continue de stroma, matrice extracellulaire dense, présence de chimiokines et de cytokines qui retiennent les lymphocytes T. Ces tumeurs, dites « froides », présentent également une charge mutationnelle élevée mais sont généralement résistantes aux traitements par inhibiteurs du signal PD-(L)1. Cet état est considéré comme non-inflammatoire, mais n'est pas irréversible. Le blocage thérapeutique de l'angiogenèse (par exemple *via* un inhibiteur des tyrosines kinases du VEGFR) ou du signal du TGFβ permettrait de renverser le défaut de recrutement des cellules T. Cette inhibition contribuerait à rendre à la tumeur un phénotype chaud sensible au traitement combiné par inhibiteur du point de contrôle immunitaire.

Finalement, les tumeurs en état de désert immunitaire sont isolées des cellules de l'immunité au niveau de la tumeur et du microenvironnement (368). Cet état peut être induit par l'absence de la présentation et de l'activation des cellules T (par exemple un défaut en cellules présentatrices d'antigènes, pas de signaux de danger, pas de molécule de co-stimulation, pas de lymphocytes T auxiliaires). Une ignorance immunologique peut également être créée par l'absence d'antigène ou un défaut de présentation (par exemple la diminution de la reconnaissance par le CMH I). Les tumeurs en désert immunitaire peuvent aussi traduire un état de tolérance : augmentation de l'activité proliférative, faible charge mutationnelle, présence de lymphocytes Treg, de macrophages M2 et de cytokines immunosuppressives. De ce fait, elles sont donc insensibles aux agents thérapeutiques impliquant l'action du système immunitaire.

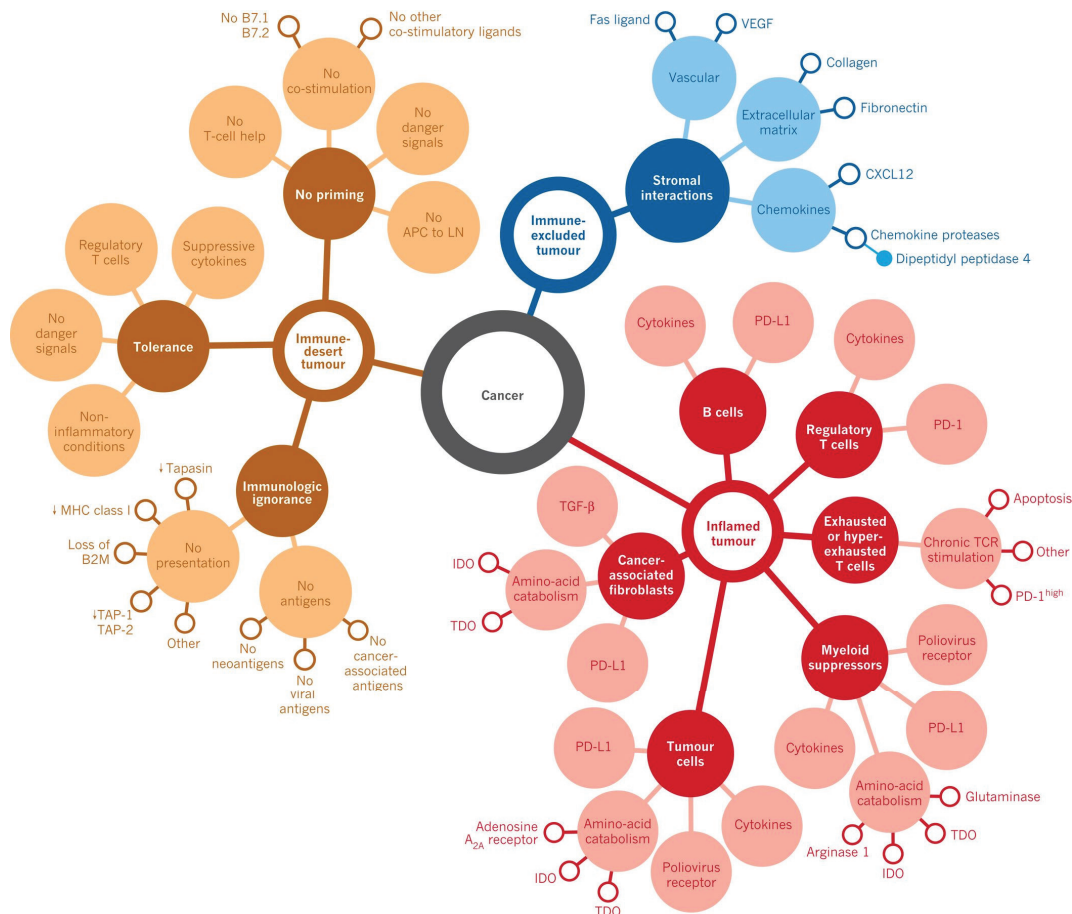


Figure 10 : Mécanismes et facteurs à l'origine des différents profils inflammatoires tumoraux. Reproduction autorisée, d'après Chen et Mellman (365).

La caractérisation de signatures génétiques traduisant l'état inflammatoire des tumeurs fait l'objet de plusieurs études (176). En 2017, une combinaison de 18 gènes impliqués dans la présentation antigénique, l'activité cytotoxique, la réponse immunitaire adaptative et l'expression d'IFN γ a été caractérisée et développée comme un outil prédictif de l'efficacité du pembrolizumab au-delà d'un certain seuil d'expression (369). Cet outil appelé signature inflammatoire tumorale a ensuite été évalué à plus grande échelle sur la base de données du programme génomique *The Cancer Genome Atlas* (370). L'utilisation de cette signature a permis de confirmer l'existence de plusieurs niveaux de réponse anti-tumorale préalable dans les tumeurs chaudes. Le score inflammatoire médian est plus élevé dans les types de tumeurs qui présentent généralement les meilleurs taux de réponses aux inhibiteurs du PD-(L)1 comme le mélanome et le CCR, et également dans le CBNPC qui fait partie des cancers dont la charge mutationnelle est généralement élevée (Figure 11). Toutefois, au sein d'un même type tumoral, la distribution des médianes de scores entre les patients atteste d'une grande variabilité inter-individuelle.

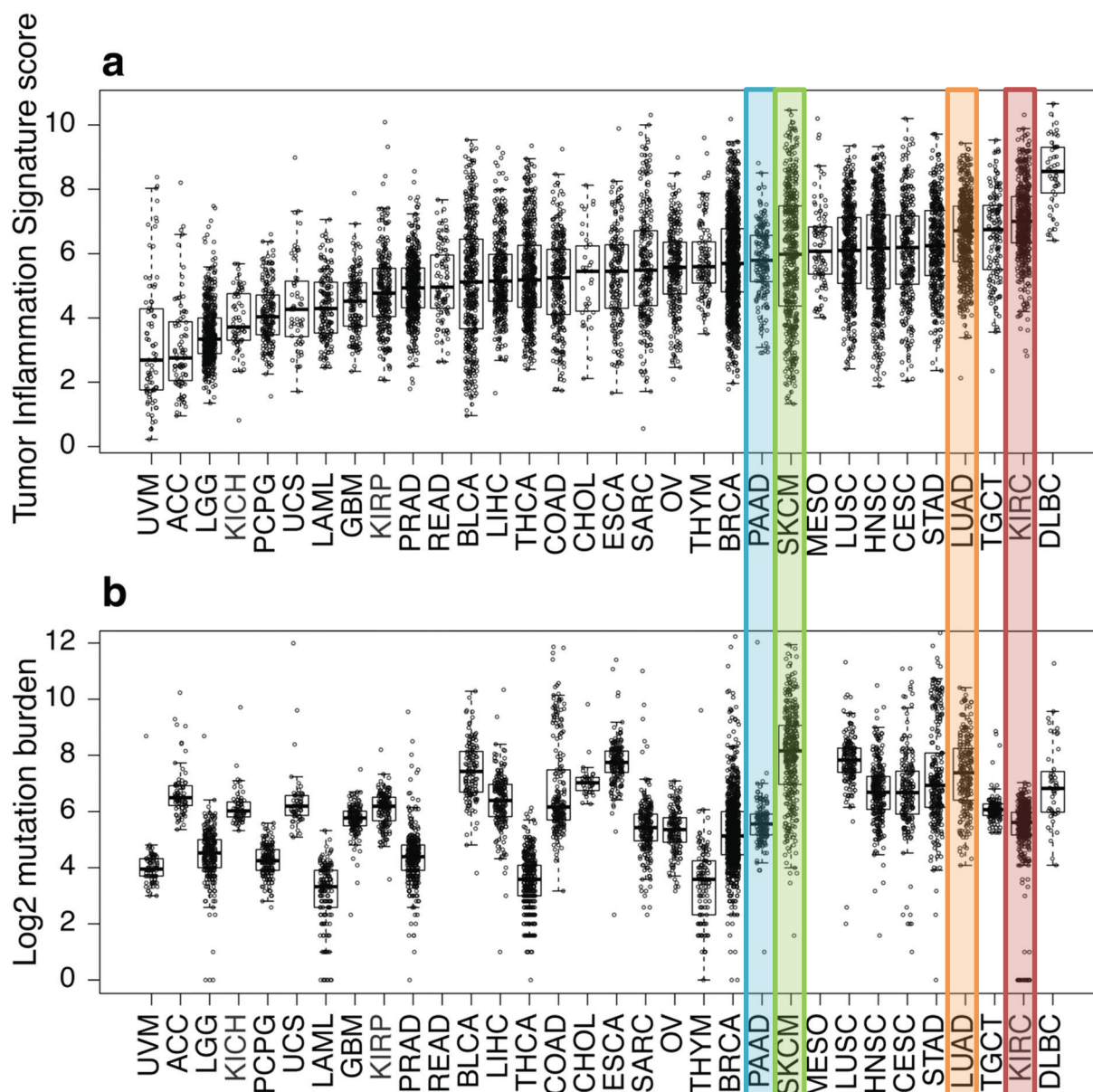


Figure 11 : Scores de la signature d'inflammation tumorale.

A. Répartition des scores individuels de la signature inflammatoire de tous les patients de la banque de données, classés par type de tumeurs, et rangés par scores médians croissants.

B. Répartition du logarithme 2 de la charge mutationnelle observée, par type de tumeurs, et rangés selon l'ordre de la figure A.

PAAD = Carcinome pancréatique (pancreatic adenocarcinoma) ; SKCM = Mélanome (skin cutaneous melanoma) ; LUAD = Cancer bronchique (lung adenocarcinoma) ; KIRC = Carcinome rénal à cellules claires (kidney renal clear cell carcinoma).

D'après Danaher (370), reproduction autorisée par la licence Creative Commons Attribution 4.0 <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.fr>

L'exemple du CCR donné dans les résultats de l'étude souligne que la charge mutationnelle n'est dans ce cas pas à elle seule l'origine de l'efficacité du traitement. Le sous-groupe histologique du CCR à cellules claires connu pour ses très bonnes réponses aux inhibiteurs du PD-1 et du PD-L1 présente le deuxième score inflammatoire le plus élevé mais une charge mutationnelle faible en comparaison aux autres types tumoraux. A l'inverse, les tumeurs

pancréatiques, pour lesquelles on observe peu de réponse aux inhibiteurs du PD-(L)1, compte tenu d'une forte activité suppressive, possèdent un score médian proche de celui du mélanome, ce qui suggère que le score inflammatoire permettrait de distinguer des échantillons de patients potentiellement répondeurs au sein d'une population qui ne l'est en principe pas. Les conclusions associées à cette signature de 18 gènes sont comparables à celles d'une étude préalable évaluant 160 gènes précédemment réalisée, ce qui rend l'utilisation de cet outil davantage transposable en pratique clinique. Cette signature inflammatoire permettrait également de détecter les « tumeurs froides » avec un score médian d'inflammation bas mais surexprimant PD-L1 susceptibles de répondre aux inhibiteurs.

De nombreux facteurs agissent dans la balance entre l'immunité et la tolérance, et donc dans les transitions entre les phénotypes chaud et froid : les altérations génétiques tumorales, la transmission héréditaire, mais aussi l'âge, la prise concomitante de médicaments, le microbiome, les oncovirus...(365). Ces différents facteurs et leur poids dans la balance pouvant évoluer au cours du temps, les trois profils d'inflammation ne sont pas statiques et ne permettent donc d'envisager une probabilité de réponse qu'à l'instant *t*. Par ailleurs, la présence d'une tumeur chaude n'exclut cependant pas la nécessité d'éléments additionnels pour que la réponse soit suffisante. De ce fait, ce phénotype ne garantit pas à lui seul une efficacité optimale des inhibiteurs du PD-(L)1.

L'accumulation de données sur les différentes composantes qui régissent la réponse ou la résistance aux inhibiteurs du PD-(L)1 montre une interaction évidente entre ces paramètres, ce qui supporte la nécessité de développer des outils permettant de les évaluer simultanément. Dans le cancer du rein, la signature moléculaire d'IMmotion 150 compare par exemple l'efficacité des trois bras de traitements évalués (incluant atezolizumab) en se basant sur les profils d'expression angiogénique, immunitaire et inflammatoire présents à l'initiation du traitement (371). Cette étude est l'une des premières évidences de l'utilisation possible de ces signatures moléculaires dans l'orientation thérapeutique. La combinaison de ces trois composantes a permis de distinguer huit profils de tumeurs et de les associer rétrospectivement aux réponses observées dans les différents bras de traitements. Les profils attestant d'une réponse immunitaire innée et d'une faible composante inflammatoire liée aux cellules myéloïdes seraient mieux répondeurs à l'atezolizumab seul. Les profils aux composantes immunitaires et inflammatoires élevées tireraient plus de bénéfice de la

combinaison. Ces données traduisent en outre l'impact potentiel du bevacizumab, un anticorps dirigé contre le VEGF, sur l'immunosuppression induite par les cellules myéloïdes. La présence de cette composante inflammatoire pourrait donc correspondre à un mécanisme de résistance à l'efficacité de l'atezolizumab seul. Le sunitinib serait davantage bénéfique aux profils à forte composante angiogénique. Les résultats bruts quant à la sélection de ces traitements en particulier doivent toutefois être interprétés avec prudence dans la mesure où la combinaison n'a à ce jour pas démontré de bénéfice en survie globale dans le CCR (372). Cette analyse de biomarqueurs montre qu'il est néanmoins pertinent de considérer l'ensemble des composantes impliquées dans l'évolution du cancer et sa résistance aux traitements et de ne pas conclure sur la seule présence ou absence d'un biomarqueur isolé.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Les recherches sur les composantes de l'oncogénèse et des mécanismes de résistances thérapeutiques ont mis en évidence une interconnexion entre les différents paramètres impliqués dans la prédiction de la réponse aux traitements. Le développement et la validation d'un biomarqueur est d'une manière générale un exercice compliqué soumis à des règles précises (373). Une sensibilité et spécificité optimales sont nécessaires pour que l'on puisse conclure avec la plus grande certitude que seuls les patients aux tests « positifs » répondront au traitement. Ce point est primordial pour la sécurité des patients lorsque l'agent thérapeutique possède un profil de toxicité étendu et que le ratio bénéfice/risque est rapidement discutable. Par ailleurs, l'administration du bon traitement au bon patient a son importance d'un point de vue économique pour le système de santé. Les biomarqueurs sont également intéressants lorsqu'ils permettent d'identifier dans une population majoritairement résistante une fraction de patients qui pourraient tirer bénéfice de la stratégie thérapeutique. Dans le cadre des inhibiteurs du PD-(L)1, les biomarqueurs avérés ou potentiels actuels ne sont pas des prédicteurs absolus de l'efficacité mais ont quand même un rôle primordial dans l'approche thérapeutique. Comme analytes isolés, ils contribuent à fournir une information sur les mécanismes complexes qui interviennent dans l'oncogénèse et la résistance. Ils fournissent également une estimation de la susceptibilité de réponse à ces agents. Étudiés simultanément, les biomarqueurs permettent d'affiner davantage le profilage des patients et augmenter la précision de la prédiction.

A l'heure actuelle, seule l'expression du PD-L1 est validée comme biomarqueur prédictif en Europe. Les MMRd et MSI sont également validés par la FDA. Parmi ceux à venir, la charge mutationnelle possède le stade de développement le plus avancé, bien qu'en pratique, elle soit d'ores et déjà admise comme biomarqueur prédictif. Il est cependant encore nécessaire de déterminer, dans des études prospectives, la valeur du seuil représentant une charge élevée, à ce jour uniquement validée pour nivolumab. L'évaluation de la charge mutationnelle est notamment recommandée par les experts dans le CBNPC sans mutation de *drivers* oncogéniques pour l'administration de la combinaison nivolumab-ipilimumab (374).

La recherche de mutations sur des gènes spécifiques par des tests moléculaires est évidemment un outil prédictif validé, mais pas particulièrement dans le cadre des inhibiteurs du PD-(L)1. Dans le CBNPC, les mutations *BRAF* ou *EGFR* sont par exemple effectivement

recherchées dans le cadre de la décision thérapeutique (374). Un test moléculaire positif pour l'une ou l'autre tranchera toutefois en faveur de l'administration d'un inhibiteur de la MAPK combiné à un inhibiteur de MEK ou d'inhibiteur de l'EGFR, malgré l'impact de ces mutations dans la surexpression de PD-L1.

La valeur des oncogènes viraux reste également à définir, les tendances actuelles ne permettant pas de conclure de façon satisfaisante quant au lien entre la contamination virale et la réponse au traitement.

Le développement de l'immunoscore pour l'évaluation de l'infiltration tumorale par les cellules de l'immunité représente également une piste intéressante, bien que son intérêt premier soit pronostic. Des études de validation sont essentielles pour son application en routine comme marqueur prédictif. L'initiation d'une étude évaluant l'efficacité de plusieurs stratégies thérapeutiques dans le traitement du carcinome colorectal métastatique à microsatellites stables mais à infiltration élevée est prévue en 2020 (375). L'infiltration des cellules tumorales sera évaluée au moyen de l'immunoscore, et les résultats de l'étude permettront de valider ou non le potentiel prédictif du score sur l'efficacité des stratégies thérapeutiques évaluées, dont le pembrolizumab.

A ce jour, l'évaluation de l'inflammation permet de constituer une carte d'identité de l'état de la tumeur et de son microenvironnement, le statut « tumeur chaude » étant notamment défini par la charge mutationnelle, l'expression du PD-L1 et l'infiltration immunitaire. Toutefois, l'évaluation du score de la signature inflammatoire par type de tumeur pourrait être un outil intéressant à développer davantage : la variabilité des scores observée au sein d'un seul type tumoral pourrait constituer une aide à la décision thérapeutique.

La composition du microbiote étant l'une des recherches les plus récentes, il apparaît nécessaire de valider les premières observations sur des cohortes de patients plus grandes. Néanmoins, savoir que l'antibiothérapie serait défavorable à l'efficacité du traitement permet à l'équipe médicale d'adapter le schéma thérapeutique en amont et d'imposer une période permettant l'élimination de l'antibiotique avant le début de l'immunothérapie.

Ces biomarqueurs ne sont cependant pas exhaustifs, mais sont ceux pour lesquels les données sont aujourd'hui les plus avancées et probantes. La recherche de biomarqueurs solubles est également active. On étudie surtout les marqueurs de l'inflammation comme la numération sanguine des cellules de l'immunité et leur ratio, les cytokines, la lactate déshydrogénase ou la protéine C réactive (376–378). Toutefois, le manque de sensibilité et de spécificité des marqueurs caractérisés à ce jour ne permet pas de s'affranchir des techniques invasives de prélèvement tumoral et des analyses tissulaires.

Aujourd'hui, on tend, comme on l'a vu, à étudier la co-expression des différents biomarqueurs pour affiner la sélection des patients. Le concept d'immunogramme du cancer illustre bien les mécanismes de résistance, les biomarqueurs éventuels et les relations entre ces marqueurs (376). La représentation de ces liens sous forme de diagramme en radar permet de suggérer une stratégie thérapeutique en fonction de la forme du graphique (Figure 12).

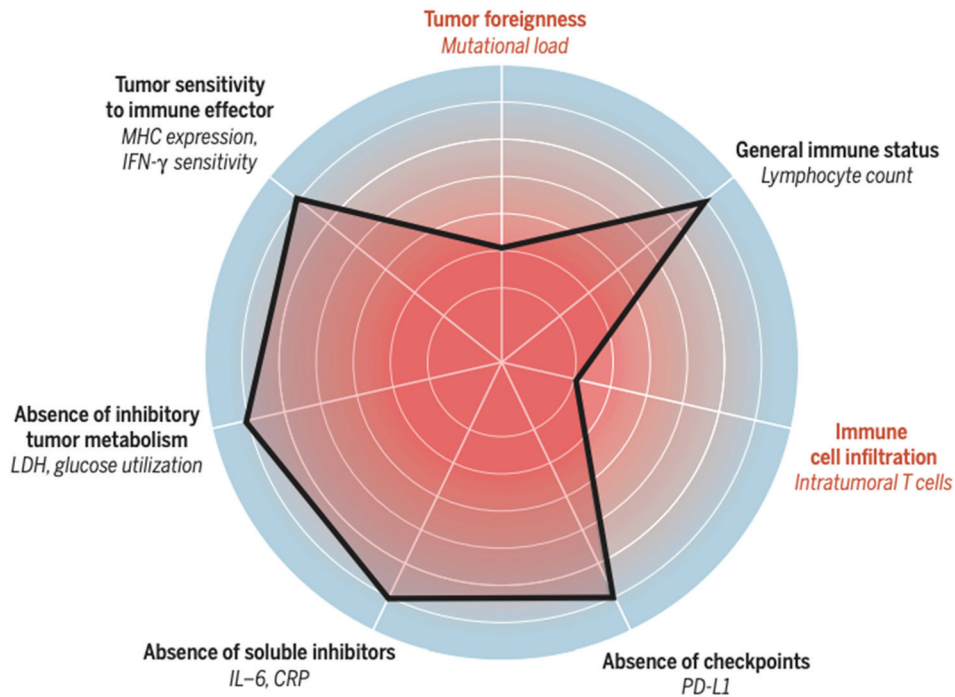


Figure 12 : Représentation d'un immunogramme dans la décision thérapeutique. La zone bleue représente la zone qu'il est souhaitable d'atteindre avec le traitement. Les facteurs dans la zone rouge sont ceux à considérer dans la stratégie thérapeutique afin de les renverser. Ce diagramme en radar représente un patient hypothétique à la charge mutationnelle basse et une faible infiltration immunitaire des tumeurs. De ce fait, ce patient tirerait plus de bénéfice d'une thérapie par cellules T infiltrant comme les cellules CAR-T. D'après Blank CU, Haanen JB, Ribas A, Schumacher TN. The "cancer immunogram". *Science*. 2016;352(6286):658-60 (376). Reproduction autorisée par AAAS.

L'optimisation de la mesure d'un biomarqueur pour convenir à la pratique clinique constitue toutefois une limitation à la valeur prédictive réelle de l'analyte. L'expression du PD-L1 et la charge mutationnelle sont en effet des variables continues que l'on cherche à transformer en variables binaires pour faciliter leur interprétation. On utilise pour cela des seuils que l'on pourrait schématiquement représenter par le point idéal d'une courbe ROC. Ils constituent le meilleur compromis entre le taux de vrais et de faux positifs, et l'on peut donc prédire l'efficacité du traitement avec un risque d'erreur relatif pour ce seul analyte. Lors du développement de chaque biomarqueur, la définition du seuil de positivité n'a pas pris en compte l'inter-dépendance possible avec un autre marqueur. En théorie, on pourrait

conclure qu'un patient dont la charge mutationnelle est dite haute, mais dont seulement 46% des cellules tumorales expriment PD-L1 (donc PD-L1 négatif) serait moins bon répondeur qu'un patient dont la charge mutationnelle et l'expression du PD-L1 se situent aux valeurs seuils. En réalité, cette différence pourrait être très relative. Il est donc nécessaire d'étudier aujourd'hui la validité des biomarqueurs et de leurs seuils en tenant compte des co-variables que représentent les autres biomarqueurs. De plus, l'absence de standardisation actuelle dans l'approche de ces marqueurs constitue un frein majeur à leur interprétation et rend difficile la généralisation des conclusions de différentes études. Le panel de dispositifs diagnostiques spécifiques à chaque agent thérapeutique pour la seule expression du PD-L1 rend son application difficile en routine. Les recommandations des sociétés savantes comme l'ESMO tendent aujourd'hui à intégrer l'expression du PD-L1 en amont de la stratégie thérapeutique. L'algorithme décisionnel dans le CBNPC qui n'a pas de mutation d'oncogène spécifique (*ALK, BRAF, EGFR...*) est particulièrement compliqué et dense, le PD-L1 étant le premier élément à évaluer avec le tabagisme (374). Selon le niveau d'expression, on se tournera vers pembrolizumab, ou des combinaisons d'inhibiteurs du PD-(L)1 avec des chimiothérapies ou des protocoles de chimiothérapie. Il faudrait donc déjà savoir vers quel agent s'orienter dans la stratégie thérapeutique pour ensuite mesurer l'expression du PD-L1 avec le bon dispositif et vérifier la réponse potentielle du patient à cet agent.

Il serait donc nécessaire d'harmoniser les techniques et de définir un cadre précis et raisonnable pour la réalisation des mesures. Ensuite, la confrontation des données jusqu'ici acquises à de nouvelles données obtenues en tenant compte des autres biomarqueurs développés depuis et des techniques standardisées permettrait de définir des seuils d'évaluation plus précis et rendre l'interprétation plus fiable. L'avantage du développement de biomarqueurs composites, incluant plusieurs paramètres en un seul outil, se reporte en outre sur son application en pratique clinique et diminue le nombre de tests auxquels soumettre l'échantillon tumoral. La caractérisation d'un outil permettant de valider l'expression du PD-L1 sur tous types de tumeurs et pour tous les inhibiteurs du point de contrôle semble être déjà un prérequis évident.

En parallèle, la recherche autour des agents thérapeutiques ciblant le point de contrôle immunitaire PD-1/PD-L1 continue. De nombreuses études cliniques sont actuellement en cours et ont pour objectif d'étendre le champ d'indication des produits déjà commercialisés. Les possibilités d'extension d'AMM sont nombreuses : type de cancer, stade, combinaisons d'agents thérapeutiques, séquences thérapeutiques, ligne de traitement, présence

individuelle de biomarqueurs (PD-L1 positifs, charge mutationnelle élevée, MMRd ou MSI) ou combinaisons de biomarqueurs (379). L'ouverture de ces agents aux cancers pédiatriques est également recherchée. Les résultats en la matière semblent pour le moment mitigés et l'efficacité des biomarqueurs ne serait pas assimilable à celle observée chez l'adulte. Deux publications récentes partagent notamment des résultats préliminaires issus d'essais de phase 1-2 sur l'efficacité d'atezolizumab et de pembrolizumab dans les tumeurs solides et dans le lymphome (380,381). Les résultats suggèrent que dans le cadre de cancers de l'enfant, la seule expression du PD-L1 ne semble pas être suffisamment prédictive de l'efficacité du pembrolizumab. Il est également important de prendre en compte l'aspect génomique chez ces patients où l'on attend une faible exposition aux agents mutagènes usuels et peu d'altérations liées à l'âge. Enfin, il semble réaliste d'imaginer prochainement en Europe l'extension de l'indication du nivolumab ou du pembrolizumab dans les tumeurs avec MSI ou MMRd.

Par ailleurs, d'autres inhibiteurs du PD-1 sont venus compléter l'arsenal thérapeutique en Chine, récemment approuvés exclusivement par l'Agence chinoise des produits alimentaires et médicaments. Le simiplimab (IBI308) et le tislelizumab (BGB-A317) sont approuvés dans le traitement du lymphome Hodgkinien (382,383). Une extension d'indication est déjà à prévoir pour le simiplimab suite aux résultats préliminaires positifs d'une étude de phase 3 dans le CBNPC sans mutation de *EGFR* ou de réarrangement de *ALK*, en combinaison avec le pemetrexed (384). Le toripalimab (JS001) a reçu une AMM conditionnelle dans le traitement du mélanome métastatique et serait actuellement évalué combiné à l'axitinib dans le mélanome muqueux (385). Le camrelizumab (SHR-1210) a également reçu une AMM conditionnelle dans le traitement du lymphome Hodgkinien en rechute ou réfractaire (386).

Enfin, d'autres agents sont également en cours développement mais n'ont pas encore été approuvés. Parmi les nouveaux inhibiteurs du PD-1 à l'étude, on retrouve notamment les études de phase 3 évaluant le spartalizumab (PDR001) dans le mélanome et le lymphome, ainsi que le camrelizumab toujours dans le lymphome Hodgkinien en vue de son approbation par la FDA et l'EMA (387,388). L'efficacité du pidilizumab est évaluée en étude de phase 2, combiné au rituximab chez les patients atteints d'un lymphome folliculaire réfractaire (389). Cet agent est évalué pour son action secondaire sur PD-1, sa cible principale étant la protéine *delta like 1*. Les autres molécules AGEN2034, BCD100, cetrelimab (JNJ 63723283), MGA012, PF-06801591, TSR042 sont en phases précoces de développement,

évaluées sur des tumeurs solides (390). Le développement d'inhibiteurs du PD-L1 est moins plébiscité, on retrouve néanmoins en phases précoces de développement KN035 qui s'administrerait par voie sous-cutanée et CA-170 qui ciblerait également le V-domaine Ig supprimeur de l'activation des lymphocytes T (391,392).

Le développement de ces agents est justifié par des modifications structurelles apportées au niveau des immunoglobulines ou l'addition de cibles secondaires. Ces modifications ont pour vocation d'engendrer un mécanisme d'action substantiellement différent des produits initiaux. Le profil de toxicité de ces nouveaux composés reste donc à déterminer.

CONCLUSION

L'objectif de cette thèse était de retracer l'origine de la recherche des biomarqueurs autour des inhibiteurs du PD-1/PD-L1 et de fournir une revue actualisée des données en la matière, en se focalisant notamment sur les plus avancées ou les plus discutées à l'heure actuelle (Figure 13). Nous avons vu que cette recherche s'inscrivait dans le contexte de médecine personnalisée basée sur les preuves, qui est contemporaine à l'émergence des thérapies innovantes. Cependant, la complexité et la multitude de mécanismes qui peuvent être à l'origine de l'oncogénèse et des résistances thérapeutiques font que tous les patients ne sont pas répondeurs à ces nouveaux traitements, qui ciblent un signal, une molécule ou des produits de gènes mutés. Ces agents prometteurs sont également coûteux et possèdent un profil de toxicité conséquent qu'il est nécessaire de prendre en compte avant l'administration au patient. De ce fait, on cherche aujourd'hui à identifier en amont du traitement les patients les plus susceptibles de présenter un bénéfice clinique.

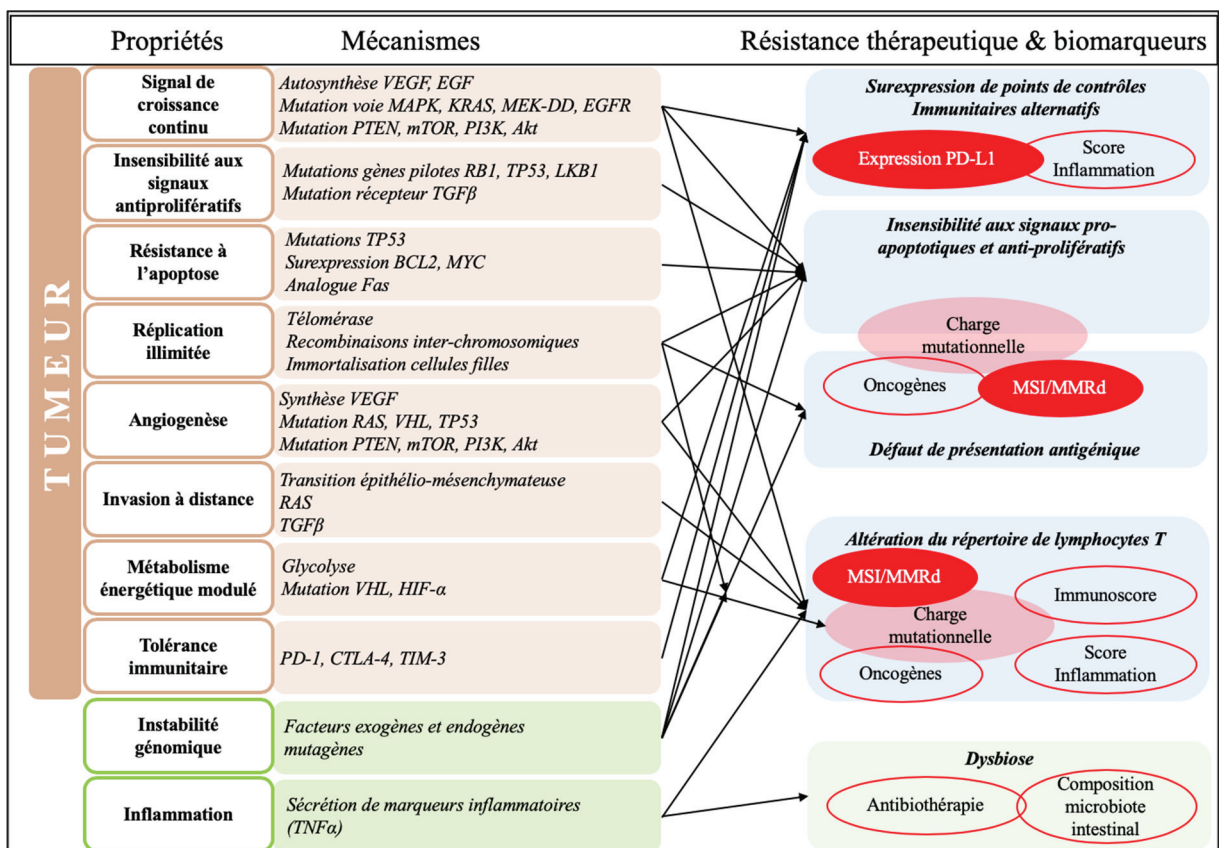


Figure 13 : Schématisation des interactions entre les propriétés intrinsèques de la tumeur, le microenvironnement, les résistances thérapeutiques et les biomarqueurs qui permettraient de les appréhender. Les propriétés en marron correspondent aux caractéristiques de la cellule tumorale et les mécanismes qui en sont à l'origine. Les propriétés en vert correspondent aux propriétés favorisantes décrites dans la partie 1.1.2.1. Le fléchage illustre l'implication de ces mécanismes dans la résistance aux inhibiteurs du PD-L1. Les biomarqueurs à fond rouge sont ceux validés et/ou utilisés dans la pratique.

Dans le cadre des inhibiteurs du signal PD-(L)1, l'initiation de la recherche de biomarqueurs prédictifs de leur efficacité a débuté en parallèle des premiers essais cliniques visant à développer nivolumab. La validation de l'expression du PD-L1 comme biomarqueur a engendré un engouement certain qui a conduit au développement de nombreux dispositifs de diagnostic *in vitro*. Le développement de biomarqueurs étant un sujet relativement récent, on se rend compte à présent du manque de rationnel et de standardisation dans les procédés de développement et de mesure de ces marqueurs. Les différences d'interprétation possiblement engendrées par la multiplicité des méthodes constituent un manque de sensibilité et de spécificité additionnel à la précision intrinsèque des tests. Le fait que de nouveaux biomarqueurs soient régulièrement identifiés nécessite donc une prise de recul sur les découvertes précédentes, et requiert des analyses de la corrélation entre ces marqueurs et de leurs facteurs confondants. D'un point de vue pratique, l'accumulation de tests diagnostiques rend difficile l'application de l'analyse des biomarqueurs en routine.

Le développement des agents thérapeutiques ciblant le signal PD-(L)1 est encore aujourd'hui extrêmement actif, en dépit des lacunes persistantes dans l'identification des patients répondeurs. Les techniques innovantes dont nous disposons aujourd'hui devraient donc inciter à faire de la caractérisation de biomarqueurs un versant à part entière du développement pharmaceutique afin que l'on soit en mesure de faire un usage bénéfique complet des composés qui sont développés et de permettre de proposer d'emblée au patient le traitement adéquat.

CONCLUSIONS

THESE SOUTENUE PAR : Mme Lisa CHAPUT

L'objectif de cette thèse était de retracer l'origine de la recherche des biomarqueurs autour des inhibiteurs de la protéine 1 de mort cellulaire programmée (PD-1) et de son ligand 1 (PD-L1), et de fournir une revue actualisée des données en la matière, en se focalisant notamment sur les plus avancées ou les plus discutées à l'heure actuelle (Figure 13). Nous avons vu que cette recherche s'inscrivait dans le contexte de médecine personnalisée basée sur les preuves, qui est contemporaine à l'émergence des thérapies innovantes. Cependant, la complexité et la multitude de mécanismes qui peuvent être à l'origine de l'oncogenèse et des résistances thérapeutiques font que tous les patients ne sont pas répondeurs à ces nouveaux traitements, qui ciblent un signal, une molécule ou des produits de gènes mutés. Ces agents prometteurs sont également coûteux et possèdent un profil de toxicité conséquent qu'il est nécessaire de prendre en compte avant l'administration au patient. De ce fait, on cherche aujourd'hui à identifier en amont du traitement les patients les plus susceptibles de présenter un bénéfice clinique.

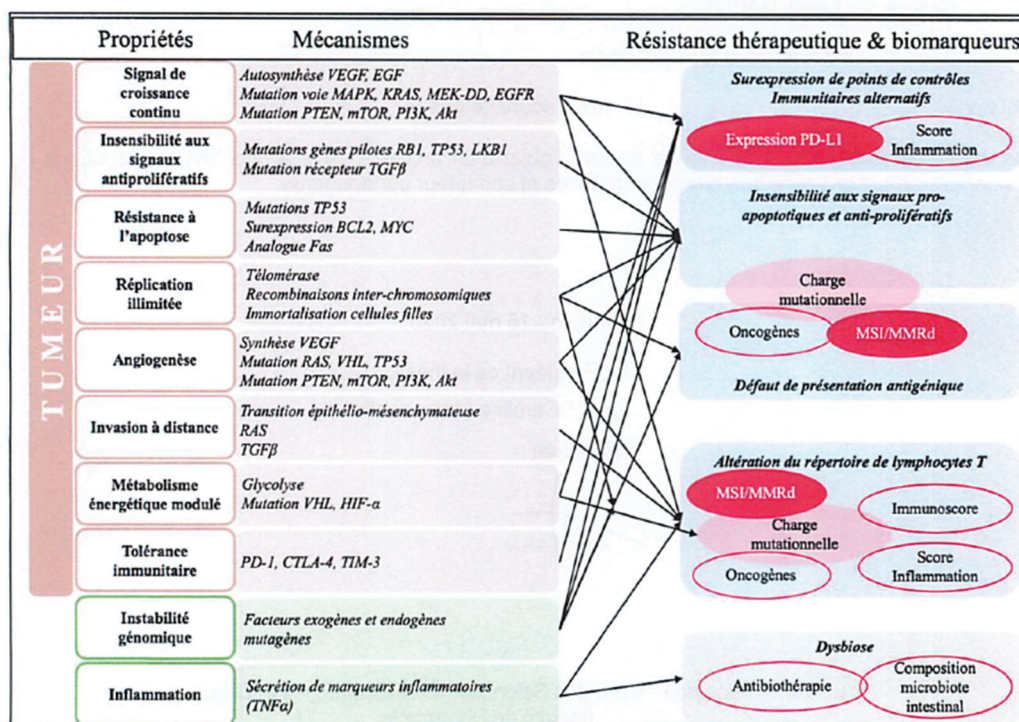


Figure 13 : Schématisation des interactions entre les propriétés intrinsèques de la tumeur, le microenvironnement, les résistances thérapeutiques et les biomarqueurs qui permettrait de les appréhender. Les propriétés en marron correspondent aux caractéristiques de la cellule tumorale et les mécanismes qui en sont à l'origine. Les propriétés en vert correspondent aux propriétés favorisant décrites dans la partie 1.1.2.1. Le fléchage illustre l'implication de ces mécanismes dans la résistance aux inhibiteurs du PD-L1. Les biomarqueurs à fond rouge sont ceux validés et/ou utilisés dans la pratique.

Dans le cadre des inhibiteurs du signal PD-(L)1, l'initiation de la recherche de biomarqueurs prédictifs de leur efficacité a débuté en parallèle des premiers essais cliniques visant à développer nivolumab. La validation de l'expression du PD-L1 comme biomarqueur a engendré un engouement certain qui a conduit au développement de nombreux dispositifs de diagnostic *in vitro*. Le

développement de biomarqueurs étant un sujet relativement récent, on se rend compte à présent du manque de rationalité et de standardisation dans les procédés de développement et de mesure de ces marqueurs. Les différences d'interprétation possiblement engendrées par la multiplicité des méthodes constituent un manque de sensibilité et de spécificité additionnel à la précision intrinsèque des tests. Le fait que de nouveaux biomarqueurs soient régulièrement identifiés nécessite donc une prise de recul sur les découvertes précédentes, et requiert des analyses de la corrélation entre ces marqueurs et de leurs facteurs confondants. D'un point de vue pratique, l'accumulation de tests diagnostiques rend difficile l'application de l'analyse des biomarqueurs en routine.

Le développement des agents thérapeutiques ciblant le signal PD-(L)1 est encore aujourd'hui extrêmement actif, en dépit des lacunes persistantes dans l'identification des patients répondeurs. Les techniques innovantes dont nous disposons aujourd'hui devraient donc inciter à faire de la caractérisation de biomarqueurs un versant à part entière du développement pharmaceutique afin que l'on soit en mesure de faire un usage bénéfique complet des composés qui sont développés et de permettre de proposer d'emblée au patient le traitement adéquat.

Le Président de la thèse,
Nom : Caroline Moyret-Lalle

Vu et permis d'imprimer, Lyon, le 15 mai 2020
Vu, la Directrice de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et
Biologiques, Faculté de Pharmacie

Signature :



Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,



Professeure C. VINCIGUERRA

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Jiang Y, Chen M, Nie H, Yuan Y. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations. *Hum Vaccines Immunother.* 2019;15(5):1111-22.
2. Arruebo M, Vilaboa N, Sáez-Gutierrez B, Lambea J, Tres A, Valladares M, et al. Assessment of the Evolution of Cancer Treatment Therapies. *Cancers.* 2011;3(3):3279-330.
3. U.S. FDA. Approval Letter Erbitux BLA 125084 [Internet]. 2004 [cité 30 juin 2019]. Disponible à: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/bla/2004/125084_ERBITUX_APPROV.PDF
4. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med.* 2004;351(4):337-45.
5. U.S. FDA. Approval Letter Avastin STN 125085 [Internet]. 2004 [cité 30 juin 2019]. Disponible à: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2004/STN-125085_Avastin_Approv.pdf
6. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med.* 2004;350(23):2335-42.
7. Maj E, Papiernik D, Wietrzyk J. Antiangiogenic cancer treatment: The great discovery and greater complexity (Review). *Int J Oncol.* 2016;49(5):1773-84.
8. Rotte A, D'Orazi G, Bhandaru M. Nobel committee honors tumor immunologists. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;37(1):262.
9. Altmann DM. A Nobel Prize-worthy pursuit: cancer immunology and harnessing immunity to tumour neoantigens. *Immunology.* 2018;155(3):283-4.
10. Lee HT, Lee SH, Heo Y-S. Molecular Interactions of Antibody Drugs Targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in Immuno-Oncology. *Mol Basel Switz.* 2019;24(6):1190.
11. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.* 1992;11(11):3887-95.
12. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci.* 2002;99(19):12293-7.
13. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.

14. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
15. Pardee AB. G1 events and regulation of cell proliferation. *Science*. 1989;246(4930):603-8.
16. Cooper GM. Functions of Cell Surface Receptors. Dans: *The Cell: A Molecular Approach* 2nd edition [Internet]. 2^e éd. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates; 2000 [cité 30 juin 2019]. Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9866/>
17. Aktas H, Cai H, Cooper GM. Ras links growth factor signaling to the cell cycle machinery via regulation of cyclin D1 and the Cdk inhibitor p27KIP1. *Mol Cell Biol*. 1997;17(7):3850-7.
18. Schlessinger J. Cell Signaling by Receptor Tyrosine Kinases. *Cell*. 2000;103(2):211-25.
19. Sporn MB, Todaro GJ. Autocrine Secretion and Malignant Transformation of Cells. *N Engl J Med*. 1980;303(15):878-80.
20. Fedi P, Kimmelman A, Aaronson SA. Growth Factor Signal Transduction in Cancer. Dans: *Holland-Frei Cancer Medicine* 5th edition [Internet]. 5^e éd. Hamilton, Ontario: BC Decker; 2000 [cité 30 juin 2019]. Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20800/>
21. Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature*. 2004;432(7015):332-7.
22. Fiore PPD, Pierce JH, Fleming TP, Hazan R, Ullrich A, King CR, et al. Overexpression of the human EGF receptor confers an EGF-dependent transformed phenotype to NIH 3T3 cells. *Cell*. 1987;51(6):1063-70.
23. Fiore PD, Pierce JH, Kraus MH, Segatto O, King CR, Aaronson SA. erbB-2 is a potent oncogene when overexpressed in NIH/3T3 cells. *Science*. 1987;237(4811):178-82.
24. Downward J, Yarden Y, Mayes E, Scrase G, Totty N, Stockwell P, et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature*. 1984;307(5951):521.
25. Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin Signaling. *Science*. 1999;285(5430):1028-33.
26. Medema RH, Bos JL. The role of p21ras in receptor tyrosine kinase signaling. *Crit Rev Oncog*. 1993;4(6):615-61.
27. Jiang B, Liu L. Chapter 2 PI3K/PTEN Signaling in Angiogenesis and Tumorigenesis. Dans: *Advances in Cancer Research* [Internet]. Academic Press; 2009 [cité 18 juin 2019]. p. 19-65. Disponible à:

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065230X09020028>

28. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, et al. PTEN, a Putative Protein Tyrosine Phosphatase Gene Mutated in Human Brain, Breast, and Prostate Cancer. *Science*. 1997;275(5308):1943-7.
29. O'Reilly KE, Rojo F, She Q-B, Solit D, Mills GB, Smith D, et al. mTOR Inhibition Induces Upstream Receptor Tyrosine Kinase Signaling and Activates Akt. *Cancer Res*. 2006;66(3):1500-8.
30. Cantley LC. The Phosphoinositide 3-Kinase Pathway. *Science*. 2002;296(5573):1655-7.
31. Downward J. Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr Opin Cell Biol*. 1998;10(2):262-7.
32. Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic ras Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell*. 1997;88(5):593-602.
33. Sarkisian CJ, Keister BA, Stairs DB, Boxer RB, Moody SE, Chodosh LA. Dose-dependent oncogene-induced senescence in vivo and its evasion during mammary tumorigenesis. *Nat Cell Biol*. 2007;9(5):493-505.
34. Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, Lin H-K, Dotan ZA, Niki M, et al. Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature*. 2005;436(7051):725-30.
35. Holley RW, Armour R, Baldwin JH. Density-dependent regulation of growth of BSC-1 cells in cell culture: growth inhibitors formed by the cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1978;75(4):1864-6.
36. Tucker RF, Shipley GD, Moses HL, Holley RW. Growth inhibitor from BSC-1 cells closely related to platelet type beta transforming growth factor. *Science*. 1984;226(4675):705-7.
37. Yang, Moses. Transforming growth factor beta 1-induced changes in cell migration, proliferation, and angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane. *J Cell Biol*. 1990;111(2):731-41.
38. Moses HL, Yang EY, Pietenpol JA. TGF- β stimulation and inhibition of cell proliferation: New mechanistic insights. *Cell*. 1990;63(2):245-7.
39. Coffey RJ, Bascom CC, Sipes NJ, Graves-Deal R, Weissman BE, Moses HL. Selective inhibition of growth-related gene expression in murine keratinocytes by transforming growth factor beta. *Mol Cell Biol*. 1988;8(8):3088-93.

40. Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell*. 1995;81(3):323-30.
41. Sherr CJ. Principles of Tumor Suppression. *Cell*. 2004;116(2):235-46.
42. Sherr CJ, McCormick F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell*. 2002;2(2):103-12.
43. Levine AJ. p53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division. *Cell*. 1997;88(3):323-31.
44. Giaccia AJ, Kastan MB. The complexity of p53 modulation: emerging patterns from divergent signals. *Genes Dev*. 1998;12(19):2973-83.
45. Okada T, Lopez-Lago M, Giancotti FG. Merlin/NF-2 mediates contact inhibition of growth by suppressing recruitment of Rac to the plasma membrane. *J Cell Biol*. 2005;171(2):361-71.
46. Curto M, Cole BK, Lallemand D, Liu C-H, McClatchey AI. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *J Cell Biol*. 2007;177(5):893-903.
47. Baas AF, Kuipers J, van der Wel NN, Batlle E, Koerten HK, Peters PJ, et al. Complete Polarization of Single Intestinal Epithelial Cells upon Activation of LKB1 by STRAD. *Cell*. 2004;116(3):457-66.
48. Markowitz S, Wang J, Myeroff L, Parsons R, Sun L, Lutterbaugh J, et al. Inactivation of the type II TGF-beta receptor in colon cancer cells with microsatellite instability. *Science*. 1995;268(5215):1336-8.
49. Massagué J. TGFβ in Cancer. *Cell*. 2008;134(2):215-30.
50. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wide-ranging Implications in Tissue Kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26(4):239-57.
51. Strasser A, Harris AW, Huang DC, Krammer PH, Cory S. Bcl-2 and Fas/APO-1 regulate distinct pathways to lymphocyte apoptosis. *EMBO J*. 1995;14(24):6136-47.
52. Huang DCS, Hahne M, Schroeter M, Frei K, Fontana A, Villunger A, et al. Activation of Fas by FasL induces apoptosis by a mechanism that cannot be blocked by Bcl-2 or Bcl-xL. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96(26):14871-6.
53. Wagner AJ, Kokontis JM, Hay N. Myc-mediated apoptosis requires wild-type p53 in a manner independent of cell cycle arrest and the ability of p53 to induce p21waf1/cip1. *Genes Dev*. 1994;8(23):2817-30.
54. Wu X, Levine AJ. p53 and E2F-1 cooperate to mediate apoptosis. *Proc Natl Acad Sci*. 1994;91(9):3602-6.
55. Mihara M, Erster S, Zaika A, Petrenko O, Chittenden T, Pancoska P, et al. p53 Has a

- Direct Apoptogenic Role at the Mitochondria. *Mol Cell*. 2003;11(3):577-90.
56. McDonnell TJ, Deane N, Platt FM, Nunez G, Jaeger U, McKearn JP, et al. bcl-2-Immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. *Cell*. 1989;57(1):79-88.
57. Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*. 1988;335(6189):440.
58. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1961;25(3):585-621.
59. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature*. 1991;350(6319):569.
60. Harley CB. Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res*. 1991;256(2):271-82.
61. Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature*. 1990;346(6287):866.
62. Counter CM, Hirte HW, Bacchetti S, Harley CB. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci*. 1994;91(8):2900-4.
63. Raynaud C, Hernandez J, Llorca F, Nuciforo P, Mathieu M-C, Commo F, et al. DNA Damage Repair and Telomere Length in Normal Breast, Preneoplastic Lesions, and Invasive Cancer. *Am J Clin Oncol*. 2010;33(4):341-5.
64. Gimbrone MA, Leapman SB, Cotran RS, Folkman J. Tumor Dormancy in Vivo by Prevention of Neovascularization. *J Exp Med*. 1972;136(2):261-76.
65. Folkman J, Watson K, Ingber D, Hanahan D. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature*. 1989;339(6219):58-61.
66. Folkman J. Tumor Angiogenesis [Internet]. BC Decker; 2000 [cité 1 août 2019]. Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20884/>
67. Lin EY, Li J-F, Gnatovskiy L, Deng Y, Zhu L, Grzesik DA, et al. Macrophages Regulate the Angiogenic Switch in a Mouse Model of Breast Cancer. *Cancer Res*. 2006;66(23):11238-46.
68. Whitelock JM, Murdoch AD, Iozzo RV, Underwood PA. The Degradation of Human Endothelial Cell-derived Perlecan and Release of Bound Basic Fibroblast Growth Factor by Stromelysin, Collagenase, Plasmin, and Heparanases. *J Biol Chem*. 1996;271(17):10079-86.
69. Houck KA, Leung DW, Rowland AM, Winer J, Ferrara N. Dual regulation of vascular endothelial growth factor bioavailability by genetic and proteolytic mechanisms. *J Biol Chem*. 1992;267(36):26031-7.

70. Liotta LA, Kohn EC. Invasion and Metastases [Internet]. BC Decker; 2000 [cité 31 juill 2019]. Disponible à: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK20786/>
71. Cano A, Pérez-Moreno MA, Rodrigo I, Locascio A, Blanco MJ, Barrio MG del, et al. The transcription factor Snail controls epithelial–mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol.* 2000;2(2):76-83.
72. Liotta LA, Mandler R, Murano G, Katz DA, Gordon RK, Chiang PK, et al. Tumor cell autocrine motility factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(10):3302-6.
73. Berx G, Cleton-Jansen AM, Nollet F, de Leeuw WJ, van de Vijver M, Cornelisse C, et al. E-cadherin is a tumour/invasion suppressor gene mutated in human lobular breast cancers. *EMBO J.* 1995;14(24):6107-15.
74. Lallemand D, Curto M, Saotome I, Giovannini M, McClatchey AI. NF2 deficiency promotes tumorigenesis and metastasis by destabilizing adherens junctions. *Genes Dev.* 2003;17(9):1090-100.
75. Kim J, Yu W, Kovalski K, Ossowski L. Requirement for Specific Proteases in Cancer Cell Intravasation as Revealed by a Novel Semiquantitative PCR-Based Assay. *Cell.* 1998;94(3):353-62.
76. Oft M, Peli J, Rudaz C, Schwarz H, Beug H, Reichmann E. TGF-beta1 and Ha-Ras collaborate in modulating the phenotypic plasticity and invasiveness of epithelial tumor cells. *Genes Dev.* 1996;10(19):2462-77.
77. Paget S. The Distribution of Secondary Growths in Cancer of the Breast. *The Lancet.* 1889;133(3421):571-3.
78. Weinhold KJ, Miller DA, Wheelock EF. The tumor dormant state. Comparison of L5178Y cells used to establish dormancy with those that emerge after its termination. *J Exp Med.* 1979;149(3):745-57.
79. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science.* 1976;194(4260):23-8.
80. Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS, Copeland NG, Jenkins NA, Garber J, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell.* 1993;75(5):1027-38.
81. Dvorak HF. Tumors: Wounds That Do Not Heal. *N Engl J Med.* 1986;315(26):1650-9.
82. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *The Lancet.* 2001;357(9255):539-45.
83. Warburg O. The Metabolism of Carcinoma Cells. *J Cancer Res.* 1925;9(1):148-63.
84. Warburg O, Wind F, Negelein E. The Metabolism of Tumors in the Body. *J Gen*

Physiol. 1927;8(6):519-30.

85. Höckel M, Schlenger K, Höckel S, Vaupel P. Hypoxic Cervical Cancers with Low Apoptotic Index Are Highly Aggressive. *Cancer Res.* 1999;59(18):4525-8.
86. DeBerardinis RJ, Mancuso A, Daikhin E, Nissim I, Yudkoff M, Wehrli S, et al. Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(49):19345-50.
87. Carmeliet P, Dor Y, Herbert J-M, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature.* 1998;394(6692):485-90.
88. Na XI, Wu G, Ryan CK, Schoen SR, Di'Santagnese PA, Messing EM. Overproduction of Vascular Endothelial Growth Factor Related to von Hippel-Lindau Tumor Suppressor Gene Mutations and Hypoxia-Inducible Factor-1 α Expression in Renal Cell Carcinomas. *J Urol.* 2003;170(2):588-92.
89. Messai Y, Gad S, Noman MZ, Le Teuff G, Couve S, Janji B, et al. Renal Cell Carcinoma Programmed Death-ligand 1, a New Direct Target of Hypoxia-inducible Factor-2 Alpha, is Regulated by von Hippel-Lindau Gene Mutation Status. *Eur Urol.* 2016;70(4):623-32.
90. Fridman WH, Zitvogel L, Sautès-Fridman C, Kroemer G. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14(12):717-34.
91. Krishnamachary B, Zagzag D, Nagasawa H, Rainey K, Okuyama H, Baek JH, et al. Hypoxia-Inducible Factor-1-Dependent Repression of E-cadherin in von Hippel-Lindau Tumor Suppressor-Null Renal Cell Carcinoma Mediated by TCF3, ZFH1A, and ZFH1B. *Cancer Res.* 2006;66(5):2725-31.
92. Kim J, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV. HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: A metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab.* 2006;3(3):177-85.
93. Petrella BL, Lohi J, Brinckerhoff CE. Identification of membrane type-1 matrix metalloproteinase as a target of hypoxia-inducible factor-2 α in von Hippel-Lindau renal cell carcinoma. *Oncogene.* 2005;24(6):1043-52.
94. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22(1):329-60.
95. Bishop JM. Viral oncogenes. *Cell.* 1985;42(1):23-38.
96. Burnet M. Immunological Factors in the Process of Carcinogenesis. *Br Med Bull.*

1964;20(2):154-8.

97. Burnet FM. The Concept of Immunological Surveillance. *Immunol Asp Neoplasia*. 1970;13:1-27.

98. Burnet M. Cancer—A Biological Approach. *Br Med J*. 1957;1(5023):841-7.

99. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature*. 2001;410(6832):1107.

100. Uyttenhove C, Van Snick J, Boon T. Immunogenic variants obtained by mutagenesis of mouse mastocytoma P815. I. Rejection by syngeneic mice. *J Exp Med*. 1980;152(5):1175-83.

101. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002;3(11):991.

102. Urban JL, Holland JM, Kripke ML, Schreiber H. Immunoselection of tumor cell variants by mice suppressed with ultraviolet radiation. *J Exp Med*. 1982;156(4):1025-41.

103. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoediting. *Immunity*. 2004;21(2):137-48.

104. Chen DS, Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity*. 2013;39(1):1-10.

105. Smyth MJ, Crowe NY, Godfrey DI. NK cells and NKT cells collaborate in host protection from methylcholanthrene-induced fibrosarcoma. *Int Immunol*. 2001;13(4):459-63.

106. Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(10):715.

107. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev*. 2001;182(1):18-32.

108. Ribas A. Adaptive Immune Resistance: How Cancer Protects from Immune Attack. *Cancer Discov*. 2015;5(9):1-5.

109. Lafferty KJ, Cunningham AJ. A new analysis of allogeneic interactions. *Aust J Exp Biol Med Sci*. 1975;53(1):27-42.

110. Jenkins MK, Ashwell JD, Schwartz RH. Allogeneic non-T spleen cells restore the responsiveness of normal T cell clones stimulated with antigen and chemically modified antigen-presenting cells. *J Immunol*. 1988;140(10):3324-30.

111. Mueller DL, Jenkins MK, Schwartz RH. Clonal Expansion Versus Functional Clonal Inactivation: A Costimulatory Signalling Pathway Determines the Outcome of T Cell Antigen Receptor Occupancy. *Annu Rev Immunol.* 1989;7(1):445-80.
112. Linsley PS, Brady W, Grosmaire L, Aruffo A, Damle NK, Ledbetter JA. Binding of the B cell activation antigen B7 to CD28 costimulates T cell proliferation and interleukin 2 mRNA accumulation. *J Exp Med.* 1991;173(3):721-30.
113. Thompson CB, Lindsten T, Ledbetter JA, Kunkel SL, Young HA, Emerson SG, et al. CD28 activation pathway regulates the production of multiple T-cell-derived lymphokines/cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(4):1333-7.
114. Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. Positive and Negative Selection of T Cells. *Annu Rev Immunol.* 2003;21(1):139-76.
115. Schwartz RH, Mueller DL, Jenkins MK, Quill H. T-cell clonal anergy. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 1989;54 Pt 2:605-10.
116. Schönrich G, Kalinke U, Momburg F, Malissen M, Schmitt-Verhulst A-M, Malissen B, et al. Down-regulation of T cell receptors on self-reactive T cells as a novel mechanism for extrathymic tolerance induction. *Cell.* 1991;65(2):293-304.
117. Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7–CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol.* 2004;4(5):336.
118. Tseng S-Y, Otsuji M, Gorski K, Huang X, Slansky JE, Pai SI, et al. B7-Dc, a New Dendritic Cell Molecule with Potent Costimulatory Properties for T Cells. *J Exp Med.* 2001;193(7):839-46.
119. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol.* 2001;2(3):261.
120. Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med.* 1999;5(12):1365.
121. Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of Lupus-like Autoimmune Diseases by Disruption of the PD-1 Gene Encoding an ITIM Motif-Carrying Immunoreceptor. *Immunity.* 1999;11(2):141-51.
122. Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. Autoimmune Dilated Cardiomyopathy in PD-1 Receptor-Deficient Mice. *Science.* 2001;291(5502):319-22.
123. Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, Ishida Y, Tsubat T, Yagita H, et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol.* 1996;8(5):765-72.

124. Nishimura H, Agata Y, Kawasaki A, Sato M, Imamura S, Minato N, et al. Developmentally regulated expression of the PD-1 protein on the surface of double-negative (CD4–CD8–) thymocytes. *Int Immunol*. 1996;8(5):773-80.
125. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the Pd-1 Immunoinhibitory Receptor by a Novel B7 Family Member Leads to Negative Regulation of Lymphocyte Activation. *J Exp Med*. 2000;192(7):1027-34.
126. Ishida M, Iwai Y, Tanaka Y, Okazaki T, Freeman GJ, Minato N, et al. Differential expression of PD-L1 and PD-L2, ligands for an inhibitory receptor PD-1, in the cells of lymphohematopoietic tissues. *Immunol Lett*. 2002;84(1):57-62.
127. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy. *Cancer Cell*. 2015;27(4):450-61.
128. Parsa AT, Waldron JS, Panner A, Crane CA, Parney IF, Barry JJ, et al. Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat Med*. 2007;13(1):84-8.
129. Marzec M, Zhang Q, Goradia A, Raghunath PN, Liu X, Paessler M, et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(52):20852-7.
130. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. 2002;8(8):793.
131. Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of Inflammatory Response with B7-H1 Expression in Human Melanocytic Lesions Supports an Adaptive Resistance Mechanism of Immune Escape. *Sci Transl Med*. 2012;4(127):127ra37.
132. Curiel TJ, Wei S, Dong H, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity. *Nat Med*. 2003;9(5):562-7.
133. Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(49):17174-9.
134. Hirano F, Kaneko K, Tamura H, Dong H, Wang S, Ichikawa M, et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by Monoclonal Antibodies Potentiates Cancer Therapeutic Immunity. *Cancer Res*. 2005;65(3):1089-96.
135. De Pas T, Giovannini M, Rescigno M, Catania C, Toffalorio F, Spitaleri G, et al. Vaccines in non-small cell lung cancer: Rationale, combination strategies and update on

- clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2012;83(3):432-43.
136. Okazaki T, Chikuma S, Iwai Y, Fagarasan S, Honjo T. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Nat Immunol*. 2013;14(12):1212-8.
137. EMA. Opdivo EPAR Product Information [Internet]. 2020 [cité 3 avr 2020]. Disponible à: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_fr.pdf
138. EMA. Keytruda EPAR Product Information [Internet]. 2019 [cité 3 avr 2020]. Disponible à: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_fr.pdf
139. EMA. Libtayo EPAR Product Information [Internet]. 2019 [cité 3 avr 2020]. Disponible à: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/libtayo>
140. EMA. Tecentriq EPAR Product Information [Internet]. 2019 [cité 3 avr 2020]. Disponible à: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tecentriq-epar-product-information_fr.pdf
141. EMA. Bavencio EPAR Product Information [Internet]. 2019 [cité 3 avr 2020]. Disponible à: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/bavencio-epar-product-information_fr.pdf
142. EMA. Imfizi EPAR Product Information [Internet]. 2020 [cité 3 avr 2020]. Disponible à: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imfizi-epar-product-information_fr.pdf
143. Chen X, Song X, Li K, Zhang T. FcγR-Binding Is an Important Functional Attribute for Immune Checkpoint Antibodies in Cancer Immunotherapy. *Front Immunol*. 2019;10:292.
144. Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014;5:520.
145. Dahan R, Segal E, Engelhardt J, Selby M, Korman AJ, Ravetch JV. FcγRs Modulate the Anti-tumor Activity of Antibodies Targeting the PD-1/PD-L1 Axis. *Cancer Cell*. 2015;28(3):285-95.
146. Zhang T, Song X, Xu L, Ma J, Zhang Y, Gong W, et al. The binding of an anti-PD-1 antibody to FcγRI has a profound impact on its biological functions. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67(7):1079-90.
147. Arlauckas SP, Garris CS, Kohler RH, Kitaoka M, Cuccarese MF, Yang KS, et al. In vivo imaging reveals a tumor-associated macrophage-mediated resistance pathway in anti-

PD-1 therapy. *Sci Transl Med.* 2017;9(389):eaal3604.

148. Russo GL, Moro M, Sommariva M, Cancila V, Boeri M, Centonze G, et al. Antibody–Fc/FcR Interaction on Macrophages as a Mechanism for Hyperprogressive Disease in Non–small Cell Lung Cancer Subsequent to PD-1/PD-L1 Blockade. *Clin Cancer Res.* 2019;25(3):989-99.

149. Bloom JW, Madanat MS, Marriott D, Wong T, Chan SY. Intrachain disulfide bond in the core hinge region of human IgG4. *Protein Sci Publ Protein Soc.* 1997;6(2):407-15.

150. Labrijn AF, Buijsse AO, van den Bremer ETJ, Verwilligen AYW, Bleeker WK, Thorpe SJ, et al. Therapeutic IgG4 antibodies engage in Fab-arm exchange with endogenous human IgG4 in vivo. *Nat Biotechnol.* 2009;27(8):767-71.

151. Wurm FM. Production of recombinant protein therapeutics in cultivated mammalian cells. *Nat Biotechnol.* 2004;22(11):1393-8.

152. Chen L, Han X. Anti–PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past, present, and future. *J Clin Invest.* 2015;125(9):3384-91.

153. Sanmamed MF, Chen L. A Paradigm Shift in Cancer Immunotherapy: From Enhancement to Normalization. *Cell.* 2018;175(2):313-26.

154. 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(7528):568-71.

155. Herbst RS, Soria J-C, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.* 2014;515(7528):563-7.

156. Boyerinas B, Jochems C, Fantini M, Heery CR, Gulley JL, Tsang KY, et al. Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Activity of a Novel Anti-PD-L1 Antibody Avelumab (MSB0010718C) on Human Tumor Cells. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(10):1148-57.

157. 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(4):320-30.

158. 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(26):2521-32.

159. Schachter J, Ribas A, Long GV, Arance A, Grob J-J, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). *The Lancet.* 2017;390(10105):1853-62.

160. Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, et al. Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019;30(5):706-20.
161. Motzer RJ, Penkov K, Haanen J, Rini B, Albiges L, Campbell MT, et al. Avelumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2019;380(12):1103-15.
162. Roland CL, Lynn KD, Toombs JE, Dineen SP, Udugamasooriya DG, Brekken RA. Cytokine Levels Correlate with Immune Cell Infiltration after Anti-VEGF Therapy in Preclinical Mouse Models of Breast Cancer. *PLOS ONE.* 2009;4(11):e7669.
163. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH, et al. Phase I Study of Single-Agent Anti-Programmed Death-1 (MDX-1106) in Refractory Solid Tumors: Safety, Clinical Activity, Pharmacodynamics, and Immunologic Correlates. *J Clin Oncol.* 2010;28(19):3167-75.
164. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(26):2443-54.
165. 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(21):2018-28.
166. 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(19):1823-33.
167. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score of 50% or Greater. *J Clin Oncol.* 2019;37(7):537-46.
168. Aguilar EJ, Ricciuti B, Gainor JF, Kehl KL, Kravets S, Dahlberg S, et al. Outcomes to first-line pembrolizumab in patients with non-small-cell lung cancer and very high PD-L1 expression. *Ann Oncol.* 2019;30(10):1653-9.
169. Mok TSK, Wu Y-L, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *The Lancet.* 2019;393(10183):1819-30.
170. Ribas A, Hamid O, Daud A, Hodi FS, Wolchok JD, Kefford R, et al. Association of

Pembrolizumab With Tumor Response and Survival Among Patients With Advanced Melanoma. *JAMA*. 2016;315(15):1600-9.

171. 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(1):23-34.

172. Pitt JM, Vétizou M, Daillère R, Roberti MP, Yamazaki T, Routy B, et al. Resistance Mechanisms to Immune-Checkpoint Blockade in Cancer: Tumor-Intrinsic and -Extrinsic Factors. *Immunity*. 2016;44(6):1255-69.

173. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell*. 2017;168(4):707-23.

174. Syn NL, Teng MWL, Mok TSK, Soo RA. De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):e731-41.

175. 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(9):819-29.

176. Rooney MS, Shukla SA, Wu CJ, Getz G, Hacohen N. Molecular and Genetic Properties of Tumors Associated with Local Immune Cytolytic Activity. *Cell*. 2015;160(1):48-61.

177. Giannakis M, Mu XJ, Shukla SA, Qian ZR, Cohen O, Nishihara R, et al. Genomic Correlates of Immune-Cell Infiltrates in Colorectal Carcinoma. *Cell Rep*. 2016;15(4):857-65.

178. Anagnostou V, Smith KN, Forde PM, Niknafs N, Bhattacharya R, White J, et al. Evolution of Neoantigen Landscape during Immune Checkpoint Blockade in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Discov*. 2017;7(3):264-76.

179. Spranger S, Bao R, Gajewski TF. Melanoma-intrinsic β -catenin signalling prevents anti-tumour immunity. *Nature*. 2015;523(7559):231-5.

180. Benci JL, Xu B, Qiu Y, Wu T, Dada H, Victor CT-S, et al. Tumor Interferon Signaling Regulates a Multigenic Resistance Program to Immune Checkpoint Blockade. *Cell*. 2016;167(6):1540-1554.e12.

181. Gajewski TF, Schreiber H, Fu Y-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol*. 2013;14(10):1014-22.

182. Motz GT, Santoro SP, Wang L-P, Garrabrant T, Lastra RR, Hagemann IS, et al. Tumor Endothelium FasL Establishes a Selective Immune Barrier Promoting Tolerance in Tumors. *Nat Med*. 2014;20(6):607-15.

183. Pauken KE, Sammons MA, Odorizzi PM, Manne S, Godec J, Khan O, et al. Epigenetic stability of exhausted T cells limits durability of reinvigoration by PD-1 blockade. *Science*. 2016;354(6316):1160-5.
184. Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, Meidenbauer N, Ammer J, Edinger M, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood*. 2007;109(9):3812-9.
185. 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(1):35-44.
186. Falletta P, Sanchez-del-Campo L, Chauhan J, Effern M, Kenyon A, Kershaw CJ, et al. Translation reprogramming is an evolutionarily conserved driver of phenotypic plasticity and therapeutic resistance in melanoma. *Genes Dev*. 2017;31(1):18-33.
187. Lou Y, Diao L, Cuentas ERP, Denning WL, Chen L, Fan YH, et al. Epithelial–Mesenchymal Transition Is Associated with a Distinct Tumor Microenvironment Including Elevation of Inflammatory Signals and Multiple Immune Checkpoints in Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2016;22(14):3630-42.
188. Koyama S, Akbay EA, Li YY, Herter-Sprue GS, Buczkowski KA, Richards WG, et al. Adaptive resistance to therapeutic PD-1 blockade is associated with upregulation of alternative immune checkpoints. *Nat Commun*. 2016;7:10501.
189. Derosa L, Hellmann MD, Spaziano M, Halpenny D, Fidelle M, Rizvi H, et al. Negative association of antibiotics on clinical activity of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced renal cell and non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2018;29(6):1437-44.
190. Routy B, Chatelier EL, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018;359(6371):91-7.
191. 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(6264):1079-84.
192. Topalian SL, Taube JM, Anders RA, Pardoll DM. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(5):275-87.
193. Torlakovic E, Lim HJ, Adam J, Barnes P, Bigras G, Chan AWH, et al. “Interchangeability” of PD-L1 immunohistochemistry assays: a meta-analysis of diagnostic accuracy. *Mod Pathol*. 2020;33:4-17.
194. U.S. FDA. Summary of Safety and effectiveness Data (SSED) [Internet]. 2015 [cité

- 10 janv 2020]. Disponible à:
https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf15/P150013b.pdf
195. U.S. FDA. Summary of Safety and effectiveness Data (SSED) [Internet]. 2015 [cité 10 janv 2020]. Disponible à:
https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf15/P150025b.pdf
196. Phillips T, Simmons P, Inzunza H, Cogswell J, Novotny J, Taylor C, et al. Development of an Automated PD-L1 Immunohistochemistry (IHC) Assay for Non-Small Cell Lung Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(8):541-9.
197. U.S. FDA. Summary of Safety and effectiveness Data (SSED) [Internet]. 2016 [cité 10 janv 2020]. Disponible à:
https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160006b.pdf
198. U.S. FDA. Summary of Safety and effectiveness Data (SSED) [Internet]. 2017 [cité 10 janv 2020]. Disponible à:
https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf16/P160046b.pdf
199. Dirix LY, Takacs I, Jerusalem G, Nikolinakos P, Arkenau H-T, Forero-Torres A, et al. Avelumab, an anti-PD-L1 antibody, in patients with locally advanced or metastatic breast cancer: a phase 1b JAVELIN Solid Tumor study. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;167(3):671-86.
200. Vennapusa B, Baker B, Kowanetz M, Boone J, Menzl I, Bruey J-M, et al. Development of a PD-L1 Complementary Diagnostic Immunohistochemistry Assay (SP142) for Atezolizumab. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019;27(2):92-100.
201. Harrington Kevin: The value of PD-L1 as a biomarker beyond lung cancers [Internet]. Barcelona, Spain: The Video Journal of oncology; 2019 [cité 13 déc 2019]. Disponible à:
<https://www.vjoncology.com/video/et-sndtb7ig-the-value-of-pd-l1-as-a-biomarker-beyond-lung-cancers/>
202. EMA. Keytruda [Internet]. European Medicines Agency. 2020 [cité 10 janv 2020]. Disponible à: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/keytruda>
203. U.S. FDA. pembrolizumab (KEYTRUDA) [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2016 [cité 10 janv 2020]. Disponible à:
<http://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/pembrolizumab-keytruda>
204. U.S. FDA. FDA approves pembrolizumab for first-line treatment of head and neck squamous cell carcinoma [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2019 [cité 13 déc 2019]. Disponible à: <http://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-pembrolizumab-first-line-treatment-head-and-neck-squamous-cell-carcinoma>

205. U.S. FDA. List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools) [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2020 [cité 11 janv 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/medical-devices/vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-vitro-and-imaging-tools>
206. EMA. Medical devices [Internet]. European Medicines Agency. 2019 [cité 11 janv 2020]. Disponible à: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/medical-devices>
207. McLaughlin J, Han G, Schalper KA, Carvajal-Hausdorf D, Pelekanou V, Rehman J, et al. Quantitative Assessment of the Heterogeneity of PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 2016;2(1):46-54.
208. Hong L, Dibaj S, Negrao MV, Reuben A, Roarty E, Rinsurongkawong W, et al. Spatial and temporal heterogeneity of PD-L1 and its impact on benefit from immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol.* 2019;37(15_suppl):9017-9017.
209. Rimm DL, Han G, Taube JM, Yi ES, Bridge JA, Flieder DB, et al. A Prospective, Multi-institutional, Pathologist-Based Assessment of 4 Immunohistochemistry Assays for PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 2017;3(8):1051-8.
210. Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, Young RJ, Sturrock S, Cooper WA, et al. Comparison of Four PD-L1 Immunohistochemical Assays in Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2018;13(3):367-76.
211. Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, Jöhrens K, Kirchner T, Reu S, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol.* 2016;29(10):1165-72.
212. Adam J, Le Stang N, Rouquette I, Cazes A, Badoual C, Pinot-Roussel H, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2018;29(4):953-8.
213. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, Ranger-Moore J, Jansson M, Kulangara K, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol.* 2017;12(2):208-22.
214. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, Beasley M-B, Borczuk AC, Botling J, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol.* 2018;13(9):1302-11.
215. Frigola X, Inman BA, Lohse CM, Krco CJ, Cheville JC, Thompson RH, et al. Identification of a Soluble Form of B7-H1 That Retains Immunosuppressive Activity and Is

- Associated with Aggressive Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17(7):1915-23.
216. Zhang J, Gao J, Li Y, Nie J, Dai L, Hu W, et al. Circulating PD-L1 in NSCLC patients and the correlation between the level of PD-L1 expression and the clinical characteristics. *Thorac Cancer.* 2015;6(4):534-8.
217. Frigola X, Inman BA, Krco CJ, Liu X, Harrington SM, Bulur PA, et al. Soluble B7-H1: Differences in production between dendritic cells and T cells. *Immunol Lett.* 2012;142(1):78-82.
218. Zhou J, Mahoney KM, Giobbie-Hurder A, Zhao F, Lee S, Liao X, et al. Soluble PD-L1 as a Biomarker in Malignant Melanoma Treated with Checkpoint Blockade. *Cancer Immunol Res.* 2017;5(6):480-92.
219. Zhang G, Hou J, Shi J, Yu G, Lu B, Zhang X. Soluble CD276 (B7-H3) is released from monocytes, dendritic cells and activated T cells and is detectable in normal human serum. *Immunology.* 2008;123(4):538-46.
220. Alexander RB, Rosenberg SA. Long-term survival of adoptively transferred tumor-infiltrating lymphocytes in mice. *J Immunol.* 1990;145(5):1615-20.
221. Rosenberg SA, Yannelli JR, Yang JC, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, Weber JS, et al. Treatment of Patients With Metastatic Melanoma With Autologous Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Interleukin 2. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86(15):1159-66.
222. Dudley ME, Wunderlich JR, Yang JC, Sherry RM, Topalian SL, Restifo NP, et al. Adoptive Cell Transfer Therapy Following Non-Myeloablative but Lymphodepleting Chemotherapy for the Treatment of Patients With Refractory Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol.* 2005;23(10):2346-57.
223. Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, Dudley ME, Stetler-Stevenson M, Feldman SA, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood.* 2010;116(20):4099-102.
224. HAS. Commission de la Transparence Avis 12 décembre 2018 tisagenlecleucel [Internet]. 2018 [cité 30 janv 2020]. Disponible à: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-12/kymriah_lal_pic_ins_avis3_ct17202.pdf
225. HAS. Commission de la Transparence Avis 5 décembre 2018 axicabtagene ciloleucel [Internet]. 2018 [cité 30 janv 2020]. Disponible à: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-12/yescarta_pic_ins_avis3_ct17214.pdf
226. Crowther MD, Dolton G, Legut M, Caillaud ME, Lloyd A, Attaf M, et al. Genome-wide CRISPR–Cas9 screening reveals ubiquitous T cell cancer targeting via the

- monomorphic MHC class I-related protein MR1. *Nat Immunol.* 2020;21(2):178-85.
227. Clemente CG, Mihm MC, Bufalino R, Zurrida S, Collini P, Cascinelli N. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *1996;77(7):1303-10.*
228. Diederichsen ACP, v. B. Hjelmberg J, Christensen PB, Zeuthen J, Fenger C. Prognostic value of the CD4+/CD8+ ratio of tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer and HLA-DR expression on tumour cells. *Cancer Immunol Immunother.* 2003;52(7):423-8.
229. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, et al. Intratumoral T Cells, Recurrence, and Survival in Epithelial Ovarian Cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(3):203-13.
230. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, Kirilovsky A, Mlecnik B, Lagorce-Pagès C, et al. Type, Density, and Location of Immune Cells Within Human Colorectal Tumors Predict Clinical Outcome. *Science.* 2006;313(5795):1960-4.
231. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):298-306.
232. Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou F-S, Bifulco C, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *The Lancet.* 2018;391(10135):2128-39.
233. Galon J, Bindea G, Mlecnik B, Angell H, Lagorce C, Toldosi AM, et al. Microenvironnement immunitaire et cancer - Intérêt de l'immunoscore pour prédire l'évolution clinique. *Med Sci Paris.* 2014;30(4):439-44.
234. Morris M, Platell C, Iacopetta B. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Perforation in Colon Cancer Predict Positive Response to 5-Fluorouracil Chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 2008;14(5):1413-7.
235. Sade-Feldman M, Yizhak K, Bjorgaard SL, Ray JP, de Boer CG, Jenkins RW, et al. Defining T Cell States Associated with Response to Checkpoint Immunotherapy in Melanoma. *Cell.* 2018;175(4):998-1013.e20.
236. Thommen DS, Koelzer VH, Herzig P, Roller A, Trefny M, Dimeloe S, et al. A transcriptionally and functionally distinct PD-1 + CD8 + T cell pool with predictive potential in non-small-cell lung cancer treated with PD-1 blockade. *Nat Med.* 2018;24(7):994-1004.
237. Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Waldner M, Obenauf AC, et al. Spatiotemporal Dynamics of Intratumoral Immune Cells Reveal the Immune Landscape in Human Cancer. *Immunity.* 2013;39(4):782-95.

238. Kansy BA, Concha-Benavente F, Srivastava RM, Jie H-B, Shayan G, Lei Y, et al. PD-1 Status in CD8+ T Cells Associates with Survival and Anti-PD-1 Therapeutic Outcomes in Head and Neck Cancer. *Cancer Res.* 2017;77(22):6353-64.
239. Chen P-L, Roh W, Reuben A, Cooper ZA, Spencer CN, Prieto PA, et al. Analysis of Immune Signatures in Longitudinal Tumor Samples Yields Insight into Biomarkers of Response and Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade. *Cancer Discov.* 2016;6(8):827-37.
240. Riaz N, Havel JJ, Makarov V, Desrichard A, Urba WJ, Sims JS, et al. Tumor and Microenvironment Evolution during Immunotherapy with Nivolumab. *Cell.* 2017;171(4):934-949.e16.
241. 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(5):e1002309.
242. Sautès-Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, Fridman WH. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2019;19(6):307-25.
243. Goc J, Germain C, Vo-Bourgais TKD, Lupo A, Klein C, Knockaert S, et al. Dendritic cells in tumor-associated tertiary lymphoid structures signal a Th1 cytotoxic immune contexture and license the positive prognostic value of infiltrating CD8+ T cells. *Cancer Res.* 2014;74(3):705-15.
244. Montfort A, Pearce O, Maniati E, Vincent BG, Bixby L, Böhm S, et al. A Strong B-cell Response Is Part of the Immune Landscape in Human High-Grade Serous Ovarian Metastases. *Clin Cancer Res.* 2017;23(1):250-62.
245. Hiraoka N, Ino Y, Yamazaki-Itoh R, Kanai Y, Kosuge T, Shimada K. Intratumoral tertiary lymphoid organ is a favourable prognosticator in patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2015;112(11):1782-90.
246. Finkin S, Yuan D, Stein I, Taniguchi K, Weber A, Unger K, et al. Ectopic lymphoid structures function as microniches for tumor progenitor cells in hepatocellular carcinoma. *Nat Immunol.* 2015;16(12):1235-44.
247. Calderaro J, Petitprez F, Becht E, Laurent A, Hirsch TZ, Rousseau B, et al. Intratumoral tertiary lymphoid structures are associated with a low risk of early recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2019;70(1):58-65.
248. Maldonado L, Teague JE, Morrow MP, Jotova I, Wu TC, Wang C, et al. Intramuscular Therapeutic Vaccination Targeting HPV16 Induces T Cell Responses That Localize in

- Mucosal Lesions. *Sci Transl Med*. 2014;6(221):221ra13.
249. Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, Hutter G, George BM, McCracken MN, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature*. 2017;545(7655):495-9.
250. Sica A, Schioppa T, Mantovani A, Allavena P. Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: Potential targets of anti-cancer therapy. *Eur J Cancer*. 2006;42(6):717-27.
251. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, et al. PD-1 Blockade with Nivolumab in Relapsed or Refractory Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med*. 2015;372(4):311-9.
252. Reichel J, Chadburn A, Rubinstein PG, Giulino-Roth L, Tam W, Liu Y, et al. Flow sorting and exome sequencing reveal the oncogenome of primary Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Blood*. 2015;125(7):1061-72.
253. Honkanen TJ, Tikkanen A, Karihtala P, Mäkinen M, Väyrynen JP, Koivunen JP. Prognostic and predictive role of tumour-associated macrophages in HER2 positive breast cancer. *Sci Rep*. 2019;9(1):1-9.
254. ESMO. Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Incidence and epidemiology [Internet]. 2019 [cité 25 févr 2020]. Disponible à: <https://www.esmo.org/guidelines/lung-and-chest-tumours/metastatic-non-small-cell-lung-cancer/Incidence-and-epidemiology>
255. EMA. Herceptin EPAR Product Information [Internet]. 2019 [cité 27 mars 2020]. Disponible à: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/herceptin-epar-product-information_en.pdf
256. Lastwika KJ, Wilson W, Li QK, Norris J, Xu H, Ghazarian SR, et al. Control of PD-L1 Expression by Oncogenic Activation of the AKT–mTOR Pathway in Non–Small Cell Lung Cancer. *Cancer Res*. 2016;76(2):227-38.
257. Song M, Chen D, Lu B, Wang C, Zhang J, Huang L, et al. PTEN loss increases PD-L1 protein expression and affects the correlation between PD-L1 expression and clinical parameters in colorectal cancer. *PloS One*. 2013;8(6):e65821.
258. Zhang X, Zeng Y, Qu Q, Zhu J, Liu Z, Ning W, et al. PD-L1 induced by IFN- γ from tumor-associated macrophages via the JAK/STAT3 and PI3K/AKT signaling pathways promoted progression of lung cancer. *Int J Clin Oncol*. 2017;22(6):1026-33.
259. Shayesteh L, Lu Y, Kuo W-L, Baldocchi R, Godfrey T, Collins C, et al. PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer. *Nat Genet*. 1999;21(1):99-102.
260. Borcoman E, De La Rochere P, Richer W, Vacher S, Chemlali W, C K, et al. Inhibition

of PI3K pathway increases immune infiltrate in muscle-invasive bladder cancer. *Oncoimmunology*. 2019;8(5):e1581556.

261. Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood*. 2007;110(1):296-304.

262. Jiang X, Zhou J, Giobbie-Hurder A, Wargo J, Hodi FS. The Activation of MAPK in Melanoma Cells Resistant to BRAF Inhibition Promotes PD-L1 Expression That Is Reversible by MEK and PI3K Inhibition. *Clin Cancer Res*. 2013;19(3):598-609.

263. Chen N, Fang W, Lin Z, Peng P, Wang J, Zhan J, et al. KRAS mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(9):1175-87.

264. Loi S, Dushyanthen S, Beavis PA, Salgado R, Denkert C, Savas P, et al. RAS/MAPK Activation Is Associated with Reduced Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple-Negative Breast Cancer: Therapeutic Cooperation Between MEK and PD-1/PD-L1 Immune Checkpoint Inhibitors. *Clin Cancer Res*. 2016;22(6):1499-509.

265. Chen N, Fang W, Zhan J, Hong S, Tang Y, Kang S, et al. Upregulation of PD-L1 by EGFR Activation Mediates the Immune Escape in EGFR-Driven NSCLC: Implication for Optional Immune Targeted Therapy for NSCLC Patients with EGFR Mutation. *J Thorac Oncol*. 2015;10(6):910-23.

266. Balan M, Teran EM y, Waaga-Gasser AM, Gasser M, Choueiri TK, Freeman G, et al. Novel Roles of c-Met in the Survival of Renal Cancer Cells through the Regulation of HO-1 and PD-L1 Expression. *J Biol Chem*. 2015;290(13):8110-20.

267. Kim EY, Kim A, Kim SK, Chang YS. MYC expression correlates with PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2017;110:63-7.

268. Casey SC, Tong L, Li Y, Do R, Walz S, Fitzgerald KN, et al. MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1. *Science*. 2016;352(6282):227-31.

269. Barsoum IB, Smallwood CA, Siemens DR, Graham CH. A Mechanism of Hypoxia-Mediated Escape from Adaptive Immunity in Cancer Cells. *Cancer Res*. 2014;74(3):665-74.

270. Gordan JD, Bertout JA, Hu C-J, Diehl JA, Simon MC. HIF-2 α Promotes Hypoxic Cell Proliferation by Enhancing c-Myc Transcriptional Activity. *Cancer Cell*. 2007;11(4):335-47.

271. Ota K, Azuma K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Tanizaki J, et al. Induction of PD-L1 Expression by the EML4-ALK Oncoprotein and Downstream Signaling Pathways in

- Non–Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(17):4014-21.
272. Koh J, Jang J-Y, Keam B, Kim S, Kim M-Y, Go H, et al. EML4-ALK enhances programmed cell death-ligand 1 expression in pulmonary adenocarcinoma via hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α and STAT3. *OncoImmunology.* 2016;5(3):e1108514.
273. Green MR, Rodig S, Juszczynski P, Ouyang J, Sinha P, O'Donnell E, et al. Constitutive AP-1 Activity and EBV Infection Induce PD-L1 in Hodgkin Lymphomas and Posttransplant Lymphoproliferative Disorders: Implications for Targeted Therapy. *Clin Cancer Res.* 2012;18(6):1611-8.
274. Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood.* 2010;116(17):3268-77.
275. Bouillez A, Rajabi H, Jin C, Samur M, Tagde A, Alam M, et al. MUC1-C integrates PD-L1 induction with repression of immune effectors in non-small-cell lung cancer. *Oncogene.* 2017;36(28):4037-46.
276. Atefi M, Avramis E, Lassen A, Wong DJL, Robert L, Foulad D, et al. Effects of MAPK and PI3K Pathways on PD-L1 Expression in Melanoma. *Clin Cancer Res.* 2014;20(13):3446-57.
277. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SAJR, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 2013;500(7463):415-21.
278. Hudson (Chairperson) TJ, Anderson W, Aretz A, Barker AD, Bell C, Bernabé RR, et al. International network of cancer genome projects. *Nature.* 2010;464(7291):993-8.
279. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non–small cell lung cancer. *Science.* 2015;348(6230):124-8.
280. Morganella S, Alexandrov LB, Glodzik D, Zou X, Davies H, Staaf J, et al. The topography of mutational processes in breast cancer genomes. *Nat Commun.* 2016;7:11383.
281. Nik-Zainal S, Davies H, Staaf J, Ramakrishna M, Glodzik D, Zou X, et al. Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature.* 2016;534(7605):47-54.
282. Robbins PF, Lu Y-C, El-Gamil M, Li YF, Gross C, Gartner J, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. *Nat Med.* 2013;19(6):747-52.
283. Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science.*

2015;348(6230):69-74.

284. Linnemann C, van Buuren MM, Bies L, Verdegaal EME, Schotte R, Calis JJA, et al. High-throughput epitope discovery reveals frequent recognition of neo-antigens by CD4 + T cells in human melanoma. *Nat Med*. 2015;21(1):81-5.

285. Chen Y-P, Zhang Y, Lv J-W, Li Y-Q, Wang Y-Q, He Q-M, et al. Genomic Analysis of Tumor Microenvironment Immune Types across 14 Solid Cancer Types: Immunotherapeutic Implications. *Theranostics*. 2017;7(14):3585-94.

286. Büttner R, Longshore JW, López-Ríos F, Merkelbach-Bruse S, Normanno N, Rouleau E, et al. Implementing TMB measurement in clinical practice: considerations on assay requirements. *ESMO Open*. 2019;4(1):e000442.

287. 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(23):2189-99.

288. Van Allen EM, Miao D, Schilling B, Shukla SA, Blank C, Zimmer L, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science*. 2015;350(6257):207-11.

289. Hellmann MD, Callahan MK, Awad MM, Calvo E, Ascierto PA, Atmaca A, et al. Tumor Mutational Burden and Efficacy of Nivolumab Monotherapy and in Combination with Ipilimumab in Small-Cell Lung Cancer. *Cancer Cell*. 2018;33(5):853-861.e4.

290. Rizvi H, Sanchez-Vega F, La K, Chatila W, Jonsson P, Halpenny D, et al. Molecular Determinants of Response to Anti-Programmed Cell Death (PD)-1 and Anti-Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Profiled With Targeted Next-Generation Sequencing. *J Clin Oncol*. 2018;36(7):633-41.

291. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, Heijden MS van der, Balar AV, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *The Lancet*. 2016;387(10031):1909-20.

292. Yarchoan M, Albacker LA, Hopkins AC, Montesion M, Murugesan K, Vithayathil TT, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers. *JCI Insight*. 2019;4(6):e126908.

293. Hellmann MD, Ciuleanu T-E, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med*. 2018;378(22):2093-104.

294. Meléndez B, Van Campenhout C, Rorive S, Rimmelink M, Salmon I, D'Haene N.

Methods of measurement for tumor mutational burden in tumor tissue. *Transl Lung Cancer Res.* 2018;7(6):661-667-667.

295. Cheng DT, Mitchell TN, Zehir A, Shah RH, Benayed R, Syed A, et al. Memorial Sloan Kettering-Integrated Mutation Profiling of Actionable Cancer Targets (MSK-IMPACT): A Hybridization Capture-Based Next-Generation Sequencing Clinical Assay for Solid Tumor Molecular Oncology. *J Mol Diagn.* 2015;17(3):251-64.

296. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, Gay L, Ali SM, Ennis R, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med.* 2017;9(1):34.

297. Weinstein JN, Collisson EA, Mills GB, Shaw KRM, Ozenberger BA, Ellrott K, et al. The Cancer Genome Atlas Pan-Cancer analysis project. *Nat Genet.* 2013;45(10):1113-20.

298. Zehir A, Benayed R, Shah RH, Syed A, Middha S, Kim HR, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med.* 2017;23(6):703-13.

299. Hellmann MD, Nathanson T, Rizvi H, Creelan BC, Sanchez-Vega F, Ahuja A, et al. Genomic Features of Response to Combination Immunotherapy in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancer Cell.* 2018;33(5):843-852.e4.

300. Buchhalter I, Rempel E, Endris V, Allgäuer M, Neumann O, Volckmar A-L, et al. Size matters: Dissecting key parameters for panel-based tumor mutational burden analysis. *Int J Cancer.* 2019;144(4):848-58.

301. Robson ME, Bradbury AR, Arun B, Domchek SM, Ford JM, Hampel HL, et al. American Society of Clinical Oncology Policy Statement Update: Genetic and Genomic Testing for Cancer Susceptibility. *J Clin Oncol.* 2015;33(31):3660-7.

302. Kowanetz M, Zou W, Shames D, Cummings C, Rizvi N, Spira A, et al. OA20.01 Tumor Mutation Burden (TMB) is Associated with Improved Efficacy of Atezolizumab in 1L and 2L+ NSCLC Patients. *J Thorac Oncol.* 2017;12(1):S321-2.

303. U.S. FDA. FDA announces approval, CMS proposes coverage of first breakthrough-designated test to detect extensive number of cancer biomarkers [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2017 [cité 24 mars 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-announces-approval-cms-proposes-coverage-first-breakthrough-designated-test-detect-extensive>

304. U.S. FDA. FDA unveils a streamlined path for the authorization of tumor profiling tests alongside its latest product action [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2017 [cité 25 mars 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/news-events/press->

announcements/fda-unveils-streamlined-path-authorization-tumor-profiling-tests-alongside-its-latest-product-action

305. ThermoFisher Scientific. OncoPrint™ Tumor Mutation Load Assay, manual library preparation [Internet]. 2020 [cité 25 mars 2020]. Disponible à: <http://www.thermofisher.com/order/catalog/product/A37909>
306. Illumina. TruSight Tumor 170 Products Highlights [Internet]. 2020 [cité 25 mars 2020]. Disponible à: <https://emea.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-tumor-170.html>
307. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, Schleifman E, Zou W, Li Y, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nat Med.* 2018;24(9):1441-8.
308. Kim ES, Velcheti V, Mekhail T, Leal TA, Dowell JE, Tsai ML, et al. Primary efficacy results from B-FIRST, a prospective phase II trial evaluating blood-based tumour mutational burden (bTMB) as a predictive biomarker for atezolizumab (atezo) in 1L non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol.* 2018;29:viii744.
309. Davis AA, Chae YK, Agte S, Pan A, Simon NI, Taxter TJ, et al. Comparison of tumor mutational burden (TMB) across tumor tissue and circulating tumor DNA (ctDNA). *J Clin Oncol.* 2017;35(15_suppl):e23028.
310. Müller JN, Falk M, Talwar J, Neemann N, Mariotti E, Bertrand M, et al. Concordance between Comprehensive Cancer Genome Profiling in Plasma and Tumor Specimens. *J Thorac Oncol.* 2017;12(10):1503-11.
311. Miao D, Margolis CA, Vokes NI, Liu D, Taylor-Weiner A, Wankowicz SM, et al. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade in microsatellite-stable solid tumors. *Nat Genet.* 2018;50(9):1271-81.
312. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, Hellmann MD, Awad MM, Gainor JF, et al. STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov.* 2018;8(7):822-35.
313. Miao D, Margolis CA, Gao W, Voss MH, Li W, Martini DJ, et al. Genomic correlates of response to immune checkpoint therapies in clear cell renal cell carcinoma. *Science.* 2018;359(6377):801-6.
314. McGranahan N, Furness AJS, Rosenthal R, Ramskov S, Lyngaa R, Saini SK, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science.* 2016;351(6280):1463-9.
315. Davoli T, Uno H, Wooten EC, Elledge SJ. Tumor aneuploidy correlates with markers

- of immune evasion and with reduced response to immunotherapy. *Science* [Internet]. 2017 [cité 26 mars 2020];355(6322). Disponible à: <https://science.sciencemag.org/content/355/6322/eaaf8399>
316. Gao J, Shi LZ, Zhao H, Chen J, Xiong L, He Q, et al. Loss of IFN- γ Pathway Genes in Tumor Cells as a Mechanism of Resistance to Anti-CTLA-4 Therapy. *Cell*. 2016;167(2):397-404.e9.
317. 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. *The Lancet*. 2016;387(10030):1837-46.
318. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378(24):2288-301.
319. Chowell D, Morris LGT, Grigg CM, Weber JK, Samstein RM, Makarov V, et al. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy. *Science*. 2018;359(6375):582-7.
320. Campbell BB, Light N, Fabrizio D, Zatzman M, Fuligni F, Borja R de, et al. Comprehensive Analysis of Hypermutation in Human Cancer. *Cell*. 2017;171(5):1042-1056.e10.
321. Bonneville R, Krook MA, Kautto EA, Miya J, Wing MR, Chen H-Z, et al. Landscape of Microsatellite Instability Across 39 Cancer Types. *JCO Precis Oncol*. 2017;(1):1-15.
322. Song Z, Cheng G, Xu C, Wang W, Shao Y, Zhang Y. Clinicopathological characteristics of POLE mutation in patients with non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2018;118:57-61.
323. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch-repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409-13.
324. Lee V, Murphy A, Le DT, Diaz Jr. LA. Mismatch Repair Deficiency and Response to Immune Checkpoint Blockade. *The Oncologist*. 2016;21(10):1200-11.
325. Rizki A, Lundblad V. Defects in mismatch repair promote telomerase-independent proliferation. *Nature*. 2001;411(6838):713-6.
326. Peterson LM, Kipp BR, Halling KC, Kerr SE, Smith DI, Distad TJ, et al. Molecular Characterization of Endometrial Cancer: A Correlative Study Assessing Microsatellite Instability, MLH1 Hypermethylation, DNA Mismatch Repair Protein Expression, and

PTEN, PIK3CA, KRAS, and BRAF Mutation Analysis. *Int J Gynecol Pathol*. 2012;31(3):195–205.

327. Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM, et al. The Vigorous Immune Microenvironment of Microsatellite Instable Colon Cancer Is Balanced by Multiple Counter-Inhibitory Checkpoints. *Cancer Discov*. 2015;5(1):43-51.

328. Drescher KM, Sharma P, Watson P, Gatalica Z, Thibodeau SN, Lynch HT. Lymphocyte recruitment into the tumor site is altered in patients with MSI-H colon cancer. *Fam Cancer*. 2009;8(3):231-9.

329. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, Di Giacomo AM, De Jesus-Acosta A, Delord J-P, et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J Clin Oncol*. 2020;38(1):1-10.

330. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, Geva R, Jäger D, Hara H, et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability–High/Mismatch Repair–Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol*. 2019;38(1):11-9.

331. U.S. FDA. FDA grants accelerated approval to pembrolizumab for first tissue/site agnostic indication [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2017 [cité 8 mars 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-pembrolizumab-first-tissuesite-agnostic-indication>

332. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz H-J, Morse MA, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2017;18(9):1182-91.

333. Morse MA, Overman MJ, Hartman L, Khoukaz T, Brucher E, Lenz H-J, et al. Safety of Nivolumab plus Low-Dose Ipilimumab in Previously Treated Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer. *The Oncologist*. 2019;24(11):1453-61.

334. U.S. FDA. FDA grants nivolumab accelerated approval for MSI-H or dMMR colorectal cancer [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2017 [cité 8 mars 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-nivolumab-accelerated-approval-msi-h-or-dmmr-colorectal-cancer>

335. U.S. FDA. FDA grants accelerated approval to ipilimumab for MSI-H or dMMR metastatic colorectal cancer [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2018 [cité

8 mars 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-ipilimumab-msi-h-or-dmmr-metastatic-colorectal-cancer>

336. 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(26):2509-20.

337. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for Cancer Detection and Familial Predisposition: Development of International Criteria for the Determination of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer. *Cancer Res.* 1998;58(22):5248-57.

338. Berg KD, Glaser CL, Thompson RE, Hamilton SR, Griffin CA, Eshleman JR. Detection of Microsatellite Instability by Fluorescence Multiplex Polymerase Chain Reaction. *J Mol Diagn.* 2000;2(1):20-8.

339. Murphy KM, Zhang S, Geiger T, Hafez MJ, Bacher J, Berg KD, et al. Comparison of the Microsatellite Instability Analysis System and the Bethesda Panel for the Determination of Microsatellite Instability in Colorectal Cancers. *J Mol Diagn.* 2006;8(3):305-11.

340. Funkhouser WK, Lubin IM, Monzon FA, Zehnbauser BA, Evans JP, Ogino S, et al. Relevance, Pathogenesis, and Testing Algorithm for Mismatch Repair–Defective Colorectal Carcinomas: A Report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn.* 2012;14(2):91-103.

341. Zitvogel L, Ayyoub M, Routy B, Kroemer G. Microbiome and Anticancer Immunosurveillance. *Cell.* 2016;165(2):276-87.

342. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *Lancet Oncol.* 2012;13(6):607-15.

343. IARC. List of Classifications – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans [Internet]. 2020 [cité 16 févr 2020]. Disponible à: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications>

344. Mui UN, Haley CT, Tyring SK. Viral Oncology: Molecular Biology and Pathogenesis. *J Clin Med.* 2017;6(12):111.

345. Yim E-K, Park J-S. The Role of HPV E6 and E7 Oncoproteins in HPV-associated Cervical Carcinogenesis. *Cancer Res Treat.* 2005;37(6):319-24.

346. Stanley MA. Human papillomavirus vaccines. *Rev Med Virol.* 2006;16(3):139-49.

347. Pearson GR. Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma. *J Cell Biochem Suppl.*

1993;17(F):150-4.

348. Wen KW, Damania B. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus (KSHV): molecular biology and oncogenesis. *Cancer Lett.* 2010;289(2):140-50.

349. Matsuoka M. Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-I) infection and the onset of adult T-cell leukemia (ATL). *Retrovirology.* 2005;2:27.

350. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore PS. Clonal Integration of a Polyomavirus in Human Merkel Cell Carcinoma. *Science.* 2008;319(5866):1096-100.

351. Nghiem PT, Bhatia S, Lipson EJ, Kudchadkar RR, Miller NJ, Annamalai L, et al. PD-1 Blockade with Pembrolizumab in Advanced Merkel-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2016;374(26):2542-52.

352. Kaufman HL, Russell J, Hamid O, Bhatia S, Terheyden P, D'Angelo SP, et al. Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: a multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(10):1374-85.

353. Nghiem P, Bhatia S, Lipson EJ, Sharfman WH, Kudchadkar RR, Brohl AS, et al. Durable Tumor Regression and Overall Survival in Patients With Advanced Merkel Cell Carcinoma Receiving Pembrolizumab as First-Line Therapy. *J Clin Oncol.* 2019;37(9):693-702.

354. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Kudo M, Hsu C, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet Lond Engl.* 2017;389(10088):2492-502.

355. Bristol Meyers Squibb. Press Release Bristol-Myers Squibb Announces Results from CheckMate -459 Study Evaluating Opdivo (nivolumab) as a First-Line Treatment for Patients with Unresectable Hepatocellular Carcinoma [Internet]. 2019 [cité 17 févr 2020]. Disponible à: <https://news.bms.com/press-release/bmy/bristol-myers-squibb-announces-results-checkmate-459-study-evaluating-opdivo-nivol>

356. Muthumani K, Shedlock DJ, Choo DK, Fagone P, Kawalekar OU, Goodman J, et al. HIV-Mediated Phosphatidylinositol 3-Kinase/Serine–Threonine Kinase Activation in APCs Leads to Programmed Death-1 Ligand Upregulation and Suppression of HIV-Specific CD8 T Cells. *J Immunol.* 2011;187(6):2932-43.

357. 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(6264):1084-9.

358. Zitvogel L, Ma Y, Raoult D, Kroemer G, Gajewski TF. The microbiome in cancer

- immunotherapy: Diagnostic tools and therapeutic strategies. *Science*. 2018;359(6382):1366-70.
359. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. 2018;359(6371):97-103.
360. Matson V, Fessler J, Bao R, Chongsuwat T, Zha Y, Alegre M-L, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science*. 2018;359(6371):104-8.
361. Hebbandi Nanjundappa R, Ronchi F, Wang J, Clemente-Casares X, Yamanouchi J, Sokke Umeshappa C, et al. A Gut Microbial Mimic that Hijacks Diabetogenic Autoreactivity to Suppress Colitis. *Cell*. 2017;171(3):655-667.e17.
362. Pietrocola F, Pol J, Vacchelli E, Rao S, Enot DP, Baracco EE, et al. Caloric Restriction Mimetics Enhance Anticancer Immunosurveillance. *Cancer Cell*. 2016;30(1):147-60.
363. Gustave Roussy. Microbiome & cancer: the ONCOBIOME consortium led by Gustave Roussy has obtained 15 m€ from Europe [Internet]. Gustave Roussy. 2019 [cité 18 févr 2020]. Disponible à: <https://www.gustaveroussy.fr/en/microbiome-cancer-oncobiome-consortium-led-gustave-roussy-has-obtained-15-meu-europe>
364. Gajewski TF, Fuertes M, Spaapen R, Zheng Y, Kline J. Molecular profiling to identify relevant immune resistance mechanisms in the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol*. 2011;23(2):286-92.
365. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 2017;541(7637):321-30.
366. Hegde PS, Karanikas V, Evers S. The Where, the When, and the How of Immune Monitoring for Cancer Immunotherapies in the Era of Checkpoint Inhibition. *Clin Cancer Res*. 2016;22(8):1865-74.
367. Gajewski TF. The Next Hurdle in Cancer Immunotherapy: Overcoming the Non-T-Cell-Inflamed Tumor Microenvironment. *Semin Oncol*. 2015;42(4):663-71.
368. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 2015;348(6230):56-61.
369. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M, Murphy E, Loboda A, Kaufman DR, et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest*. 2017;127(8):2930-40.
370. Danaher P, Warren S, Lu R, Samayoa J, Sullivan A, Pekker I, et al. Pan-cancer adaptive immune resistance as defined by the Tumor Inflammation Signature (TIS): results

- from The Cancer Genome Atlas (TCGA). *J Immunother Cancer*. 2018;6(1):63.
371. McDermott DF, Huseni MA, Atkins MB, Motzer RJ, Rini BI, Escudier B, et al. Clinical activity and molecular correlates of response to atezolizumab alone or in combination with bevacizumab versus sunitinib in renal cell carcinoma. *Nat Med*. 2018;24(6):749-57.
372. Rini BI, Powles T, Atkins MB, Escudier B, McDermott DF, Suarez C, et al. Atezolizumab plus bevacizumab versus sunitinib in patients with previously untreated metastatic renal cell carcinoma (IMmotion151): a multicentre, open-label, phase 3, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2019;393(10189):2404-15.
373. U.S. FDA. Biomarker Qualification: Evidentiary Framework [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2018 [cité 27 mars 2020]. Disponible à: <http://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/biomarker-qualification-evidentiary-framework>
374. ESMO. Management of Advanced/Metastatic NSCLC [Internet]. 2019 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <https://www.esmo.org/guidelines/lung-and-chest-tumours/metastatic-non-small-cell-lung-cancer/management-of-advanced-metastatic-nscl#figure-2>
375. ClinicalTrials.gov. Chemotherapy and Immunotherapy as Treatment for MSS Metastatic Colorectal Cancer With High Immune Infiltrate [Internet]. ClinicalTrials.gov. 2020 [cité 14 avr 2020]. Disponible à: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04262687>
376. Blank CU, Haanen JB, Ribas A, Schumacher TN. The “cancer immunogram”. *Science*. 2016;352(6286):658-60.
377. Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, Bauml JM, Alley EW, Evans TL, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth*. 2017;106:1-7.
378. Thompson JR, Menon SP. Liquid Biopsies and Cancer Immunotherapy. *Cancer J*. avr 2018;24(2):78–83.
379. Yu JX, Hodge JP, Oliva C, Neftelinov ST, Hubbard-Lucey VM, Tang J. Trends in clinical development for PD-1/PD-L1 inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;19(3):163-4.
380. Georger B, Kang HJ, Yalon-Oren M, Marshall LV, Vezina C, Pappo A, et al. Pembrolizumab in paediatric patients with advanced melanoma or a PD-L1-positive, advanced, relapsed, or refractory solid tumour or lymphoma (KEYNOTE-051): interim analysis of an open-label, single-arm, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol*. 2020;21(1):121-33.
381. Georger B, Zwaan CM, Marshall LV, Michon J, Bourdeaut F, Casanova M, et al. Atezolizumab for children and young adults with previously treated solid tumours, non-

Hodgkin lymphoma, and Hodgkin lymphoma (iMATRIX): a multicentre phase 1–2 study. *Lancet Oncol.* 2020;21(1):134-44.

382. Innovent Biologics, Inc. China's NMPA Approves Innovent's Anti-PD-1 Antibody Tyvyt® (Sintilimab injection) for Hodgkin's Lymphoma [Internet]. 2018 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <http://innoventbio.com/en/#/news/123>

383. BeiGene. China National Medical Products Administration Approves BeiGene's Tislelizumab for Patients with Classical Hodgkin's Lymphoma Who Have Received at Least Two Prior Therapies [Internet]. GlobeNewswire News Room. 2019 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <http://www.globenewswire.com/news-release/2019/12/28/1964740/0/en/China-National-Medical-Products-Administration-Approves-BeiGene-s-Tislelizumab-for-Patients-with-Classical-Hodgkin-s-Lymphoma-Who-Have-Received-at-Least-Two-Prior-Therapies.html>

384. Eli Lilly and Company. Tyvyt (Sintilimab Injection) Combined with ALIMTA (Pemetrexed) and Platinum Met Predefined Primary Endpoint in Phase 3 ORIENT-11 Study as First-Line Therapy in Nonsquamous NSCLC [Internet]. Eli Lilly and Company. 2020 [cité 29 mars 2020]. Disponible à: <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/tyvyt-sintilimab-injection-combined-alimta-pemetrexed-and>

385. Junshi Biosciences. Junshi Biosciences Receives Orphan Drug Designation from the U.S. FDA for Toripalimab in Combination with Pfizer's Axitinib for the Treatment of Mucosal Melanoma [Internet]. GlobeNewswire News Room. 2020 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <http://www.globenewswire.com/news-release/2020/03/30/2008556/0/en/Junshi-Biosciences-Receives-Orphan-Drug-Designation-from-the-U-S-FDA-for-Toripalimab-in-Combination-with-Pfizer-s-Axitinib-for-the-Treatment-of-Mucosal-Melanoma.html>

386. Markham A, Keam SJ. Camrelizumab: First Global Approval. *Drugs.* 2019;79(12):1355-61.

387. Qin S, Ren Z, Meng Z, Chen Z, Chai X, Xiong J, et al. Camrelizumab in patients with previously treated advanced hepatocellular carcinoma: a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2020;21(4):571-80.

388. Institut National du Cancer. Étude PLATforM : étude de phase 2 randomisée évaluant l'efficacité et la sécurité de nouvelles associations de traitements comprenant le spartalizumab (PDR001) chez des patients ayant un mélanome non résecable ou métastatique préalablement traité. [Internet]. 2019 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Le-registre-des-essais-cliniques/Le->

registre-des-essais-cliniques/Etudes-cliniques/Etude-PLATforM-etude-de-phase-2-randomisee-evaluant-l-efficacite-et-la-securite-de-nouvelles-associations-de-traitements-comprenant-le-spartalizumab-PDR001-chez-des-patients-ayant-un-melanome-non-resecable-ou-metastatique-prealablement-traite

389. Westin JR, Chu F, Zhang M, Fayad LE, Kwak LW, Fowler N, et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(1):69-77.

390. Institut National du Cancer. Les immunothérapies spécifiques dans le traitement des cancers - Rapport [Internet]. 2018 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Les-immunotherapies-specifiques-dans-le-traitement-des-cancers-Rapport>

391. Xu J-M, Qin S, Zhang Y, Zhang Y, Jia R, Liu R, et al. Phase I study of KN035, the first subcutaneously administered, novel fusion anti-PD-L1 antibody in patients with advanced solid tumors in China. *J Clin Oncol.* 2019;37(15_suppl):2608-2608.

392. Curis, Inc. CA-170 [Internet]. Curis, Inc. 2019 [cité 1 avr 2020]. Disponible à: <https://www.curis.com/pipeline/ca-170/>

« L'ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs. »

« L'ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon est engagé dans une démarche de lutte contre le plagiat. De ce fait une sensibilisation des étudiants et encadrants des thèses a été réalisée avec notamment l'incitation à l'utilisation de méthodes de recherche de similitudes. »

CHAPUT Lisa

Inhibiteurs du PD-1/PD-L1 : contexte de leur développement clinique et enjeux des biomarqueurs prédictifs de leur efficacité.

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2020, 144 p.

Les inhibiteurs du point de contrôle immunitaire PD-1/PD-L1 représentent un paradigme dans la stratégie thérapeutique anticancéreuse. Cependant, certaines populations de patients ne semblent pas répondre favorablement au traitement. Compte tenu du profil de toxicité de ces agents, des biomarqueurs prédictifs sont nécessaires afin de s'assurer de leur efficacité préalablement à leur administration.

L'objectif de ce travail est de fournir une revue des biomarqueurs avérés ou supposés et de discuter leurs avantages et leurs limites au regard des facteurs confondants estimés ou potentiels, non pris en compte durant leur développement isolé.

La première partie retrace les grands principes de l'oncogenèse, de l'immunité anti-tumorale et mécanismes de résistance immunitaire qui servent de rationnel à la recherche et au développement des inhibiteurs du PD-1/PD-L1. Le portefeuille de produits actuellement disponible en Europe y est également décrit. Nous avons également détaillé des mécanismes de résistance thérapeutique observés avec ces agents qui supportent la nécessité de développer des biomarqueurs prédictifs de leur efficacité.

La seconde partie se concentre autour des biomarqueurs validés ou potentiels, pour lesquels les recherches sont les plus avancées. Dans cette partie, nous avons discuté les caractéristiques et le niveau de preuve des biomarqueurs validés, ainsi que leurs limites dans leur capacité à prédire avec précision l'efficacité des inhibiteurs du PD-(L)1. Nous avons également décrit les biomarqueurs pour lesquels le niveau de preuve est moins avancé, ou ceux difficile à valider, mais qui semblent prometteurs.

Les inhibiteurs du PD-1/PD-L1 constituent une stratégie thérapeutique dont l'efficacité prometteuse requiert néanmoins le développement de biomarqueurs prédictifs validés, dont l'utilisation et l'interprétation sont standardisées et applicables en pratique clinique.

MOTS CLES

PD-1/PD-L1
Oncologie
Biomarqueur prédictif
Immunothérapie

JURY

Mme MOYRET-LALLE Caroline, Professeur
M. JORDHEIM Lars Petter, Maître de Conférences
M. DUMONTET Charles, Professeur
Mme LEONCE Camille, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE

12 Juin 2020

ADRESSE DE L'AUTEUR

6 rue de la Termette 01350 Béon