



**HAL**  
open science

# Étude descriptive rétrospective et mono-centrique de la survie des patients suivis pour un cancer bronchique non à petites cellules traités par nivolumab, en fonction du statut PD-L1

Pierre Helly de Tauriers

## ► To cite this version:

Pierre Helly de Tauriers. Étude descriptive rétrospective et mono-centrique de la survie des patients suivis pour un cancer bronchique non à petites cellules traités par nivolumab, en fonction du statut PD-L1. Médecine humaine et pathologie. 2017. dumas-01643944

**HAL Id: dumas-01643944**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01643944>**

Submitted on 21 Nov 2017

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

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

Université Bordeaux Segalen  
U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2017

N° 3183

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Le 30 octobre 2017

Par Pierre Helly de Tauriers

Né le 13 Mars 1987 à Versailles (78)

Interne de DES Pneumologie

Etude descriptive rétrospective et mono-centrique de la  
survie des patients suivis pour un cancer bronchique non à petites  
cellules traités par nivolumab, en fonction du statut PD-L1.

Directeur de thèse : Docteur Rémi Veillon

Rapporteur : Professeur Thierry Chinet

Jury

Madame le Professeur Chantal Raherison	Président
Monsieur le Professeur Alain Ravaud	Juge
Madame le Professeur Dominique Breilh	Juge
Monsieur le Docteur Hugues Begueret	Juge
Monsieur le Docteur Rémi Veillon	Juge

Au président du jury

**Madame le Professeur Chantal Raherison**

Je vous remercie d'avoir accepté la présidence de ce jury. C'est grâce à votre accord que j'ai pu intégrer le DES de pneumologie après mon droit au remord. Votre présence aux différentes « bibliographies de service » que j'ai présentées pendant ces années semble, avec le recul, les répétitions prémonitoires de ce jour et je vous en remercie.

A mon directeur de thèse

**Monsieur Le Docteur Rémi Veillon**

Je me destinais à la pneumologie générale et j'ai découvert l'oncologie thoracique avec toi. Un regard d'oncologue dans un monde de pneumologues voilà ce qui m'a séduit ; séduit par l'équilibre de tes prises en charges ; séduit par tes concepts essentiels à la prise en charge en oncologie comme le concept de médecin-arbitre. Quelques années plus tard tu as accepté de diriger ma thèse et je t'en remercie. J'espère que d'autres auront cette chance.

A mon rapporteur

**Monsieur le Professeur Thierry Chinet**

Dans la perspective de ma future prise de poste dans votre service, votre évaluation revêt un caractère tout particulier et je vous en remercie.

Aux membres du jury

**Monsieur le Professeur Alain Ravaud**

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury. J'ai eu le plaisir de pouvoir travailler dans votre service et je salue, par votre intermédiaire, une équipe qui travaille avec bienveillance à la prise en charge efficace et respectueuse des patients.

**Madame le Professeur Dominique Breilh**

Vous me faites l'honneur de participer à ce jury. Votre participation est le symbole de la nécessaire inter-disciplinarité de la médecine moderne dont la complexité ne permet plus une expertise mono-spécialité.

**Monsieur le Dr Hugues Begueret**

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du jury. J'ai pu apprécier, au cours de ces années, votre disponibilité et vos expertises de qualité, en privé ou en RCP, faisant progresser des problématiques diagnostiques enlisées.

J'adresse mes remerciements :

Aux médecins qui ont marqué tout particulièrement mes études de médecine :

- Monsieur le Professeur Marc Verny, Chef de Service de Gériatrie à l'Hôpital de La Pitié Salpêtrière.
- Monsieur le Professeur Sylvain Renolleau, praticien hospitalier en réanimation pédiatrique à l'Hôpital Necker.
- Monsieur le Docteur Philippe Faroudja, Médecin généraliste à Saint Pardoux La Rivière.

Vous m'avez montré que ce métier est un art subtil, un équilibre entre une prise en charge technique et une prise en charge humaine, particulière à chaque patient.

A Lydwine Scordia, Maître de Conférence d'Histoire Médiévale à l'Université de Rouen pour votre soutien fidèle et efficace depuis mon collège jusqu'à la thèse de médecine ; pour votre perspicacité et votre énergie qui sont des exemples à suivre.

Aux médecins de la Pneumologie Bordelaise qui m'ont formé : Dr Claire Dromer, Dr Elodie Blanchard, Dr Julie Macey, Dr Helene Jungmann, Dr Julien Casteight, Dr Nadia Chakroun.

Au Dr Capucine Morélot-Panzini pour sa compétence et sa bienveillance.

A mes Chefs de Cliniques, tout particulièrement : Dr Xavier Demant pour ses connaissances, Dr Mathieu Rigaud pour sa pédagogie, Dr Elise Abraham pour son travail en équipe.

A ceux qui m'ont aidé pour ce travail : Lisa Maloberti pour les tests anatomopathologiques, Sebastien Cossin pour les statistiques, Alice et Marc de Tauriers, Cécile de Crémiers, Laure-Anne Pénicaud et Véronique de Tauriers pour la relecture.

A mes compagnons de travail :

Les internes de pneumologie de Bordeaux et spécialement Amaïa David pour son esprit fantasque, Pierre Rigaud pour sa sympathique rigueur et Delphine Bourlier pour son énergie.

A tous les autres internes, que je ne peux tous nommer mais que je salue très amicalement.

A ma famille, soutien indéfectible : mes grands-parents; mes chers parents à qui je dois tellement, pour ce qu'ils m'ont donné, pour la confiance qu'ils m'ont accordée, pour leurs attentions délicates; mes (beaux-)frères et (belles-)sœurs : Cécile et Martial, Armelle et Louis, Marc, Alice, François. A mon Oncle Xavier Desjobert.

A Monsieur de Gavriloff, Enseignant de Français/Latin au Lycée.

A mes amis de Paris et de Bordeaux que je ne pourrai tous nommer : Xavier P. de W., Paul et Priscille L., Laure-Anne P., Domitille P., Maylis P., Charles de G., Pierre L., Albane de C., Hugues L., Grégoire B., Antoine B., Thomas et Véronique L., Clémence H. et Laurent R., Amandine B., François-Xavier B. et sa famille, Madeleine et Eloi P., Solesne et Pierre de L., Marie-Madeleine P., Gonzague M., Benoit, Claire, Alix, Laure de L., Jehanne et François de L., Henri D., Benoit D., Soline P., Astrid de S., Floriane, Claire et Jean-Baptiste B., Solesne L., les internes de Périgueux Hiver 2012-2013.

A Madame S. de Paris  
A Monsieur R. de Libourne  
A Monsieur B. de Bordeaux

# Table des matières

1. INTRODUCTION .....	8
1.1 Les traitements en deuxième ligne avant l'ère des immunothérapies .....	8
1.2 L'ère des immunothérapies .....	9
1.3 Les caractéristiques anatomopathologiques du statut PD-L1 .....	16
1.4 Les études comparatives des différents clones .....	20
1.5 Les méta-analyses sur le statut PD-L1 .....	22
1.6 Les pratiques françaises .....	23
1.7 L'objectif de l'étude .....	23
2. METHODOLOGIE .....	24
2.1 Les données .....	24
2.2 Le protocole de service .....	25
2.3 Le protocole pour les tests anatomopathologiques .....	25
2.4 Les statistiques .....	26
3. RESULTATS .....	27
3.1 Les caractéristiques descriptives de la population étudiée .....	27
3.2 Les facteurs cliniques influençant la survie globale .....	29
3.3 Les caractéristiques du statut PD-L1 sur les cellules tumorales .....	32
3.4 L'évaluation du statut PD-L1 $\geq 50\%$ sur les cellules tumorales .....	34
3.5 Les effets secondaires .....	38
3.6 La survie post progression .....	38
4. DISCUSSION .....	40
4.1 Les limitations .....	40
4.2 La survie globale .....	40
4.3 Les caractéristiques des variables clinico-radiologique .....	40
4.4 Les caractéristiques du statut PD-L1 .....	42
4.5 La survie post progression .....	45
5. CONCLUSION .....	46
6. BIBLIOGRAPHIE .....	47
7. ANNEXES .....	53

## Index figures et tableaux

FIGURE 1 : CYCLE CANCER ET IMMUNITE.....	9
FIGURE 2 : FREQUENCE DE L'EXPRESSION DE PD-L1 EN FONCTION DU TYPE DE PRELEVEMENT .....	16
FIGURE 3 : SCORE MOYEN POUR CHAQUE ANATOMOPATHOLOGISTE ET FREQUENCE DE DISTRIBUTION DES RESULTATS POUR L'ANALYSE DES CELLULES TUMORALES .....	21
FIGURE 4: SURVIE GLOBALE DE LA POPULATION ETUDIEE .....	30
FIGURE 5 : SURVIE GLOBALE DES PATIENTS EN FONCTION DU PERFORMANCE STATUS .....	30
FIGURE 6 : SURVIE GLOBALE DES PATIENTS EN FONCTION DE LA LIGNE D'ADMINISTRATION DU NIVOLUMAB .....	31
FIGURE 7 : SURVIE GLOBALE DES PATIENTS EN FONCTION DU STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES.....	31
FIGURE 8: SURVIE SANS PROGRESSION DES PATIENTS EN FONCTION DU STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES	32
FIGURE 9 : MEILLEURE REPONSE SELON RECIST EN FONCTION DU STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES .....	33
FIGURE 10 : SURVIE GLOBALE DES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 $\geq$ 50% SUR LES CELLULES TUMORALES VERSUS LES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 < 50%.....	34
FIGURE 11 : SURVIE SANS PROGRESSION DES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 $\geq$ 50% SUR LES CELLULES TUMORALES VERSUS LES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 < 50%.....	35
FIGURE 12 : TAUX DES MEILLEURES REPONSES SELON RECIST DES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 $\geq$ 50% SUR LES CELLULES TUMORALES .....	36
FIGURE 13 : TAUX DE REPONSE PARTIELLE/COMPLETE DES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 $\geq$ 50% SUR LES CELLULES TUMORALES (MODALITE : OUI/NON).....	36
FIGURE 14 : SURVIE POST PROGRESSION EN FONCTION DE LA MEILLEURE REPONSE SELON RECIST .....	39
TABLEAU 1 : CARACTERISTIQUES DES DIFFERENTS CLONES .....	19
TABLEAU 2 : CARACTERISTIQUES CLINIQUES, HISTOLOGIQUES ET RADIOLOGIQUES DE LA POPULATION ETUDIEE.....	28
TABLEAU 3 : CARACTERISTIQUES DE L'ADMINISTRATION DU NIVOLUMAB, DE LA MEILLEURE REPONSE SELON RECIST ET DU STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES .....	29
TABLEAU 4 : ANALYSE UNIVARIEE DES FACTEURS ASSOCIES AUX REPONSES PARTIELLES OU COMPLETES .....	37
TABLEAU 5 : ANALYSE MULTIVARIEE DES FACTEURS ASSOCIES AUX REPONSES PARTIELLES OU COMPLETES.....	38

## Index annexes

ANNEXE 1 : SYSTEME IMMUNITAIRE ET CANCEROLOGIE.....	53
ANNEXE 2 : LA VOIE PD-1/PD-L1 .....	57
ANNEXE 3 : NOMBRE DE JOURS DE SUIVI EN FONCTION DE L'AGE .....	61
ANNEXE 4 : SURVIE GLOBALE EN FONCTION DU STATUT TABAGISME SEVRE .....	61
ANNEXE 5 : SURVIE GLOBALE EN FONCTION DU TYPE HISTOLOGIQUE .....	62
ANNEXE 6 : SURVIE GLOBALE EN FONCTION DES TRAITEMENTS ANTERIEURS A L'ADMINISTRATION DU NIVOLUMAB ....	62
ANNEXE 7 : SURVIE GLOBALE EN FONCTION DE LA PRESENCE DE METASTASE CEREBRALE .....	63
ANNEXE 8 : MEILLEURE REPONSE SELON RECIST REGROUPEE EN DEUX CATEGORIES PROGRESSION VERSUS MALADIE STABLE OU REPONSE PARTIELLE OU REPONSE COMPLETE EN FONCTION DU STATUT PD-L1.....	63
ANNEXE 9 : TAUX DES MEILLEURS REPONSES SELON RECIST DES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES $\geq 50\%$ .....	64
ANNEXE 10 : TAUX DE REPONSE PARTIELLE/COMPLETE SELON RECIST (DES PATIENTS PRESENTANT UN STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES $\geq 50\%$ .....	64
ANNEXE 11 : SURVIE GLOBALE EN FONCTION DE LA MEILLEURE REPONSE SELON RECIST .....	65
ANNEXE 12 : SURVIE SANS PROGRESSION EN FONCTION DE LA MEILLEURE REPONSE SELON RECIST .....	65
ANNEXE 13 : TAUX DES MEILLEURES REPONSES SELON RECIST EN FONCTION DU PERFORMANCE STATUS. ....	66
ANNEXE 14 : SURVIE GLOBALE EN FONCTION DU STATUT PD-L1 SUR LES CELLULES TUMORALES ET IMMUNITAIRES ....	66
ANNEXE 15 : DELAI ENTRE LA DERNIERE INJECTION ET DECES .....	67
ANNEXE 16 : TABLEAU COMPARATIF DES DIFFERENTES ETUDES CITEES.....	68



# 1. INTRODUCTION

Le cancer du poumon fait partie d'une des premières causes de décès par cancer en France. On compte 29 949 décès en 2014. 39 495 nouveaux cas sont rapportés en 2014 avec une survie globale à 5 ans de 14% en 2008 (1). Le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) représente 74.2% des diagnostics en 2010 (2). L'efficacité et, surtout, le faible nombre des ressources thérapeutiques, sont un enjeu majeur. Les principales avancées depuis les années 2000 concernent les patients présentant une addiction oncogénique. Les patients accessibles à une thérapie ciblée représentent un faible pourcentage de l'ensemble des patients atteints d'un CBNPC (mutation EGFR 11%, ALK 5% et BRAF 1% ) (3).

## 1.1 Les traitements en deuxième ligne avant l'ère des immunothérapies

Jusqu'en 2016, la chimiothérapie cytotoxique est la première ligne de traitement des CBNPC ne présentant pas d'addiction oncogénique. Habituellement le traitement proposé est un doublet à base de sels de platine. Aux platines sont associées des taxanes, des antifolates et/ou des anti-VEGF. Les bons répondeurs ont la possibilité de recevoir un traitement de maintenance.

Nous n'abordons que les traitements de deuxième ligne.

Les avancées concernant les ressources thérapeutiques en deuxième ligne à partir des années 2000 sont : tout d'abord le docetaxel qui a montré une amélioration de la survie globale de 7.0 mois contre 4.6 mois pour les soins palliatifs exclusifs avec un  $p=0.047$  (4), puis le pemetrexed qui a montré sa non-infériorité au docetaxel, associée à une nette diminution de la toxicité (5), puis le ramucirumab qui associé au docetaxel, a montré contre le docetaxel seul une amélioration de la survie globale de 10.5 mois contre 9.1 mois avec un hazard ratio (HR) à 0.86, un intervalle de confiance à 95% (IC95%) entre 0.75 et 0.98 et un  $p=0.023$  (6) et enfin le nintedanib qui, associé au docetaxel, avait montré contre le docetaxel seul, une meilleure survie sans progression à 3.4 mois contre 2.7 mois avec un HR à 0.79, un IC95% [0.68-0.92] et un  $p=0.0019$  ainsi qu'une amélioration de la survie globale des patients présentant un adénocarcinome (7). On notera que l'erlotinib a montré une amélioration de la survie globale de 6.7 versus 4.7 mois avec un HR à 0.70 et un  $p<0.001$  (8) à une époque où l'on ne pratiquait pas la recherche systématique de la mutation EGFR. En

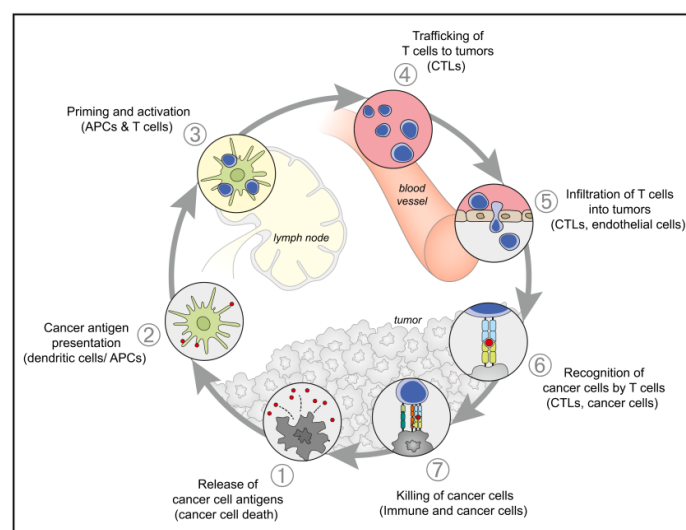
2016, l'essai ULTIMATE a comparé l'association paclitaxel et bevacizumab au docetaxel seul en deuxième ligne ou plus et a montré une amélioration de la médiane de la survie sans progression de 5.4 mois contre 3.9 mois, un HR à 0.62 avec un IC95% [0.4-0.86] et un  $p=0.005$  (9).

Les progrès réalisés, même significatifs, n'ont pas fondamentalement modifié la prise en charge des CBNPC métastatiques au pronostic grave et au traitement lourd, souvent limité par l'état général des patients. Depuis une quinzaine d'années la recherche se concentre sur de nouvelles cibles thérapeutiques.

## 1.2 L'ère des immunothérapies

### 1.2.1 Introduction

Le cycle cancer-immunité décrit par Chen et al (10) (Figure 1) explique en 7 étapes la réponse immunitaire non-pathologique. Les antigènes libérés dans le microenvironnement tumoral sont présentés par les cellules présentatrices d'antigènes aux lymphocytes au sein des organes lymphoïdes, c'est le priming. Les lymphocytes activés migrent par la circulation sanguine vers le tissu tumoral qu'ils infiltrent. Lorsque le lymphocyte reconnaît la cellule tumorale, cette dernière est détruite, cette étape correspond à la réponse effectrice du système immunitaire. A chacune de ces étapes le lymphocyte est soumis à des signaux activateurs ou inhibiteurs.



**Figure 1 : Cycle cancer et immunité**  
tiré de Chen et al (10)

L'échappement tumoral au système immunitaire fait intervenir différents mécanismes (détaillés dans l'Annexe 1) au niveau moléculaire, génétique et épigénétique. Les modifications cellulaires dans l'expression antigénique, dans la sécrétion de cytokines et chémokines, modifient le microenvironnement tumoral. La réponse immunitaire innée et adaptative s'en trouve perturbée. La synapse immunologique permet la reconnaissance d'un antigène par les cellules du système immunitaire. Elle fait intervenir trois signaux. Le premier correspond à la reconnaissance du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) par le T cell receptor (TCR) des lymphocytes. Le deuxième signal fait intervenir des co-sigaux activateurs ou inhibiteurs modulant la réponse cellulaire. Parmi ces signaux inhibiteurs on retrouve la voie CD80/CTLA-4 et la voie Programmed Death 1 (PD-1) et Programmed Death Ligand 1 (PD-L1). La première voie intervient dans l'initiation de la réponse immunitaire, entre le lymphocyte et la cellule dendritique (priming), c'est-à-dire dans l'activation lymphocytaire alors que la deuxième voie intervient dans la réponse effectrice du système immunitaire, entre le lymphocyte et la cellule tumorale, c'est-à-dire dans la capacité du lymphocyte à éliminer la cellule tumorale. Le troisième signal correspond à la modulation de la réponse immunitaire par des cytokines.

L'activation de la voie PD-1 (détaillé dans l'Annexe 2) entraîne une inhibition de la voie d'activation intracellulaire des lymphocytes par la diminution de la production de cytokines, une diminution de la consommation de glucose, une diminution de la prolifération cellulaire et une diminution de la survie cellulaire. Cette voie entraîne l'anergie du lymphocyte T CD8. Elle entraîne une différenciation des lymphocytes T CD4+ en lymphocytes T régulateurs ce qui contribue à une immunotolérance locale en inhibant directement l'activité du lymphocyte T cytotoxique (LTC). De même, la capacité effectrice des LTC est directement impactée par l'activation de la voie PD-L1. La présence de PD-L1 à la surface des cellules tumorales est un mécanisme d'échappement tumoral.

La présence de PD-L1 à la surface tumorale est probablement liée à deux mécanismes. Le premier correspond à l'activation de façon constitutive de la voie oncogénique PI3K-AKT. Le second correspond à l'activation acquise par la présence de l'IFN-gamma dans le microenvironnement tumoral. L'IFN-gamma est en partie produit par les lymphocytes.

La recherche a développé des immunothérapies ciblant ces clusters de différenciation. L'objectif est de lever l'immunotolérance locale en bloquant la voie PD1/PD-L1. La plupart de ces anticorps sont des immunoglobulines (Ig) hybride dont le fragment Fc (fragment

cristallisable) est modifié, permettant d'éviter la cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC ou Antibody Dependant Cell-mediated Cytotoxicity) (11). Certains anticorps ciblent le PD-1 d'autres le PD-L1. L'implication de ces différences est difficilement appréciable.

### **1.2.2 Le nivolumab**

Le nivolumab est un anticorps IgG4 humain dirigé contre le PD-1 dans le but de lever les freins à l'activation des cellules immunitaires.

L'essai CHECKMATE 063 est un essai de phase II testant le nivolumab, en deuxième ligne ou plus, de patients présentant un carcinome épidermoïde en stade avancé. Les tests PD-L1 sont réalisés avec le clone 28-8 de Dako. Chez les patients ayant un statut PD-L1  $\geq$  5%, le taux de réponse partielle était de 24% contre 14% dans le groupe statut PD-L1 < 5% (12).

L'essai CHECKMATE 017 (13) compare le nivolumab au docetaxel en deuxième ligne de traitement des carcinomes épidermoïdes et montre une survie globale médiane significativement supérieure (respectivement 9.2 mois contre 6.0 mois) avec un HR à 0.59, un  $p < 0.001$  avec un IC95% [0.44-0.79] indépendamment du statut PD-L1. Le bras traité par nivolumab présente une supériorité du taux de réponse (20% versus 9%) et de la survie sans progression (3.5 versus 2.8 mois) comparativement au bras docetaxel. Le profil des survies est en faveur d'une réponse prolongée dans un sous groupe de patients. Le statut PD-L1 est réalisé à l'aide du clone 28-8 de Dako. Il permet l'évaluation rétrospective du statut PD-L1. Pour le sous-groupe dont le statut PD-L1  $\geq$  10%, le HR est égal à 0.50 (0.28-0.89) avec une médiane de survie globale à 11 mois pour le bras nivolumab contre 7.1 mois pour le bras docetaxel, pour le sous-groupe PD-L1  $\geq$  5% le HR est égal à 0.53 (0.31-0.89) avec une médiane de survie globale à 10 mois pour le bras nivolumab versus 6.4 mois pour le bras docetaxel, pour le sous-groupe PD-L1  $\geq$  1%, le HR est à 0.69 (0.44-1.1) avec une médiane de survie globale à 9.3 mois pour le bras nivolumab contre 7.2 mois pour le bras docetaxel, pour le sous-groupe PD-L1 < 1%, le HR est à 0.58 (0.37-0.82) avec une médiane de survie globale à 8.7 mois pour le bras nivolumab contre 5.9 mois pour le bras docetaxel. Il semble que les sous-groupes présentant un statut PD-L1 élevé ont une survie médiane globale plus longue.

L'essai CHECKMATE 057 compare le nivolumab au docetaxel en deuxième ligne de traitement des carcinomes non épidermoïdes et montre une survie médiane à 12.2 mois

contre 9.4 mois avec un HR à 0.73  $p < 0.002$  (14). En revanche, les patients traités par nivolumab présentant des facteurs pronostiques défavorables et/ou une maladie plus agressive ont un risque de décès augmenté dans les 3 premiers mois (15). Une analyse rétrospective du statut PD-L1 (clone 28-8 de Dako) sur 78% de la population initiale est réalisée. Les deux bras sont équilibrés sans qu'il ait de stratification. Le sur-risque de mortalité dans le bras nivolumab, dans les premiers mois de traitements, est moindre chez les patients présentant un statut PD-L1  $\geq 1\%$  et surtout  $\geq 5\%$ . On constate une amélioration de la survie globale en faveur du nivolumab quel que soit le seuil retenu. Néanmoins on note que les patients présentant un statut PD-L1  $< 1\%$  ont un taux de réponse de 9% et surtout que leur survie médiane est de 18 mois. Cette survie médiane est comparable aux patients présentant un statut PD-L1  $\geq 50\%$ . Le statut PD-L1 semble exclure certains patients qui peuvent bénéficier de ce traitement (16).

L'essai CHECKMATE 012 (clone 28-8 de Dako) est un essai de phase I du nivolumab en première ligne dans le traitement des CBNPC. On ne constate pas d'association entre la survie globale ou la survie sans progression et le statut PD-L1 (17).

L'essai CHECKMATE 026 est un essai de phase III comparant le nivolumab à la chimiothérapie en première de ligne de traitement des CBNPC chez des patients dont le statut PD-L1 est supérieur ou égal à 5%. L'objectif principal est la survie sans progression. La survie sans progression n'est pas significativement augmentée dans le groupe traité par nivolumab avec une médiane à 4.2 mois versus 5.9 mois sous chimiothérapie, avec un HR à 1.15 IC95% [0.91-1.45] et un  $p=0.25$ . La survie globale est de 14.4 mois dans le groupe nivolumab contre 13.2 mois dans le groupe chimiothérapie avec un HR à 1.02 95% IC [0.80-1.30]. Cette étude n'a pas montré de différence en terme de survie sans progression, de survie globale ou de taux de réponse en première ligne, entre le bras nivolumab versus chimiothérapie standard chez les patients présentant un statut PD-L1  $\geq 5\%$  (18).

Synthèse : Les résultats de CHECKMATE 026 ne confirment pas la valeur prédictive du statut PD-L1 malgré les résultats prometteurs des études précédentes.

### **1.2.3 Autres exemples**

En revanche d'autres essais sur les immunothérapies ont développé d'autres façons d'évaluer le statut PD-L1. Le pembrolizumab est la première immunothérapie bénéficiant

d'un test compagnon. L'exemple de l'atezolizumab est intéressant pour l'originalité de la construction du score du statut PD-L1.

### **1.2.3.1 Le pembrolizumab**

La réalisation du statut PD-L1 a montré son intérêt en première ligne de traitement des CBNPC.

L'essai KEYNOTE 010 est un essai de phase II comparant le pembrolizumab à 2 mg/kg, à 10 mg/kg et le docetaxel en deuxième ligne de traitement des CBNPC. Seuls les patients avec un statut PD-L1  $\geq 1\%$  (clone 22C3 de Dako) sur les cellules tumorales sont inclus. La survie globale est augmentée dans les bras pembrolizumab versus docetaxel avec une médiane à 10.4 mois IC95% [9.4-11.9], 12.7 mois IC95% [10.0-17.3] et 8.5 mois IC95% [7.5-9.8] respectivement. Parmi les patients avec un statut PD-L1  $\geq 50\%$  sur les cellules tumorales, on constate une médiane de survie à 14.9 mois IC95% [10.4-NR] pour le bras pembrolizumab à 10 mg/kg, 14.3 mois IC95% [11.8-NR] pour le bras pembrolizumab à 2 mg/kg et 8.2 mois IC95% [6.4-10.7] pour le docetaxel.

L'essai KEYNOTE24 (19) compare le pembrolizumab à la chimiothérapie par un doublet de chimiothérapie à base de sel de platine en première ligne de traitement de patients atteints d'un CBNPC présentant une expression de PD-L1  $\geq 50\%$  sur les cellules tumorales (clone 22C3 de Dako). La survie sans progression est de 10.3 mois IC95% [6.7-NE] contre 6.0 mois IC95% [4.2-6.2] avec un HR à 0.50 IC95% [0.37-0.68]. La survie globale à 6 mois est de 80.2% contre 72.4% avec un HR à 0.60 IC95% [0.41-0.89]. Le taux de réponse est de 44.8% dans le bras pembrolizumab contre 27.8 % dans le bras chimiothérapie. A la suite de cette étude le pembrolizumab va probablement devenir un standard en première ligne (L'autorisation de mise sur le marché a été obtenue mais actuellement sans remboursement) de traitement des CBNPC ayant un statut PD-L1  $\geq 50\%$ . C'est la première immunothérapie bénéficiant d'un test compagnon avec une valeur prédictive suffisante.

### **1.2.3.2 L'atezolizumab**

Le développement des tests sur le statut PD-L1 prend une autre tournure concernant l'atezolizumab et le clone SP142 de Ventana. Les premiers essais de phase I montrent une bonne association entre le statut PD-L1 positif et la réponse clinique au traitement par MPDL3280A. En revanche, l'association entre l'expression de PD-L1 sur les cellules

immunitaires et la réponse clinique au traitement est plus élevée que l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales et la réponse clinique au traitement (20). L'essai de phase II POPLAR (21) compare l'atezolizumab à la chimiothérapie en deuxième ligne du CBNPC. Deux mesures sont réalisées, le pourcentage de cellules tumorales (TC) exprimant PD-L1 (réparties en 4 classes TC0 < 1%, 1% ≤ TC1 < 5%, 5% ≤ TC2 < 50%, TC3 ≥ 50%) et le pourcentage de cellules immunitaires (IC) infiltrant la tumeur exprimant PD-L1 (réparties en 4 classes IC0 < 1%, 1% ≤ IC1 < 5%, 5% ≤ IC2 < 10% et IC3 ≥ 10%). En intention de traiter, les patients traités par atezolizumab ont une survie significativement augmentée par rapport à ceux traités par chimiothérapie. L'analyse en sous-groupe montre que les patients TC0 et IC0 ne présentent pas d'amélioration significative de la survie dans le bras atezolizumab comparativement au bras chimiothérapie avec HR à 1.04 IC95% [0.62-1.75]. Les patients TC3 et IC3 présentent une amélioration significative de la survie globale avec un HR à 0.49 IC95% [0.22-1.07] dans le bras atezolizumab comparativement au bras chimiothérapie standard. Enfin l'analyse en sous-groupe de l'expression des gènes *PDL1*, *PDL2*, *PD1*, *B7h1* et de la signature génique lymphocyte T effecteur – IFN gamma montre une survie globale statistiquement supérieure dans le groupe à forte expression traité par l'atezolizumab.

L'essai de phase III, OAK compare l'atezolizumab au docetaxel en deuxième ligne de traitement des CBNPC. Le clone SP142 de Ventana permet de réaliser les tests PD-L1. Les deux bras sont stratifiés selon le statut PD-L1 tel qu'il a été proposé dans l'essai POPLAR. En intention de traiter, la survie globale médiane des patients traités par l'atezolizumab est statistiquement plus élevée, soit 13.8 mois IC95% [11.8-15.7] contre 9.6 mois IC95% [8.6-11.2] avec un HR à 0.73 IC95% [0.62-0.87]. L'analyse des différents sous-groupes retrouve une survie globale médiane statistiquement supérieure dans l'ensemble des sous-groupes. Par exemple le groupe IC3 ou TC3 traité par l'atezolizumab présente une survie médiane à 20.5 mois IC95% [17.5-NE] contre 8.9 mois IC95% [5.6-11.6] pour le docetaxel avec un HR à 0.41 IC95% [0.27-0.64], le groupe IC0 et TC0 traité par l'atezolizumab présente une survie médiane à 12.6 mois IC95% [9.6-15.2] contre 8.9 mois IC95% [7.7-11.5] pour le docetaxel avec un HR à 0.75 IC95% [0.59-0.96].

#### **1.2.4 Problématiques**

Les résultats de ces différentes études révèlent, notamment pour le nivolumab, que certains patients ne tirent pas de bénéfice de ces traitements coûteux. Enfin il semble

même que pour une fraction d'entre eux le traitement est délétère. En effet, de récentes publications montrent l'existence probable de patients hyperprogresseurs sous immunothérapie. Dans les cancers épidermoïdes ORL, Saâda-Bouزيد et al (22) retrouve 29% de patients hyperprogresseurs définis comme ayant une cinétique de croissance tumorale sous immunothérapie (mesurée par la différences de la somme des diamètres des lésions tumorales par unité de temps) deux fois supérieure à la cinétique de croissance tumorale avant la mise sous immunothérapie. Champiat et al (23), dans une étude sur 218 patients ayant bénéficiés d'une immunothérapie anti-PD-1 ou anti-PD-L1, montre que 9% de ces patients présentent un taux de croissance tumorale supérieur sous immunothérapie (estimation en pourcentage de la croissance du volume tumoral pendant un mois).

La recherche d'un biomarqueur devient un enjeu important.

Contrairement aux essais KEYNOTE, les essais CHECKMATE n'ont pas montré de valeur prédictive suffisante du statut PD-L1 positif et ce malgré des indices favorables dans les études de phase I et II. Giroux Leprieur et al (24) propose plusieurs hypothèses :

- La différence d'efficacité des deux immunothérapies, semble actuellement difficile à affirmer au regard des résultats similaires des phases II et III de patients non sélectionnés sur leur statut PD-L1.
- Les populations sélectionnées dans chaque étude ne sont pas strictement identiques. Par exemple, comparativement à l'essai KEYNOTE 24, l'essai CHECKMATE 026 comporte moins de patients fumeurs et les patients présentant des métastases cérébrales ne bénéficient pas systématiquement d'un traitement local.
- La réalisation des tests immunohistochimiques ne sont pas comparables. Enfin la construction des scores de positivité du statut PD-L1 sont différentes.

Ces exemples montrent combien l'élaboration des statuts PD-L1 est pensée comme tests compagnons pour chaque immunothérapie. Leur comparaison est donc compliquée car les clones, les méthodes de révélations et les seuils de positivité pratiqués sont différents.

Le principe d'action de chacun de ces traitements étant le même, on peut s'interroger sur ces différences de résultats. Les tests compagnons semblent être une réponse à ces disparités de résultats.

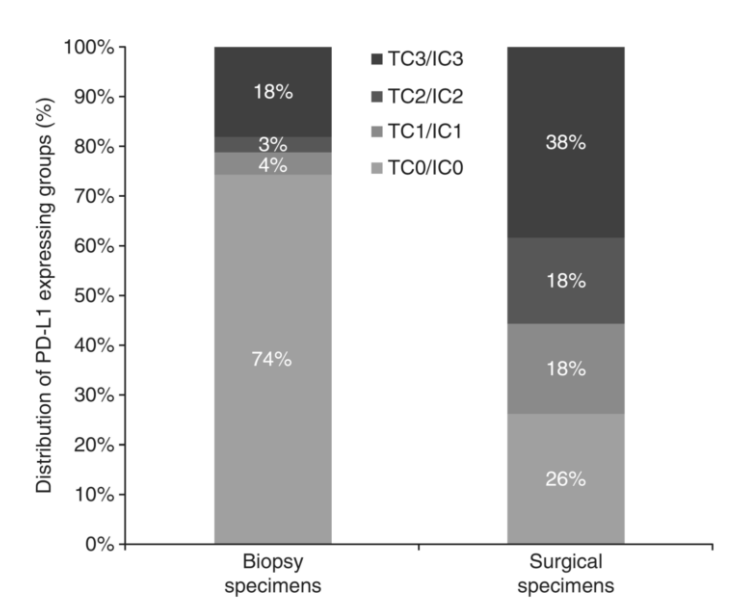


### 1.3 Les caractéristiques anatomopathologiques du statut PD-L1

#### 1.3.1 Caractéristiques pré-test

##### 1.3.1.1 L'hétérogénéité temporelle et spatiale

La première difficulté dans l'expression du PD-L1 est sa grande hétérogénéité intra tumorale (25) posant la question du nombre de biopsies nécessaires pour évaluer correctement un statut PD-L1. Une étude comparant l'expression de PD-L1 sur des biopsies puis sur la résection chirurgicale complète chez 160 patients retrouve jusqu'à 46 % de discordance (26) (Figure 2). Les résultats sur biopsies pulmonaires ont tendance à sous-estimer l'expression de PD-L1. Une étude ne confirme pas ces résultats et ne retrouve pas de différences significatives de l'expression de PD-L1 entre 79 biopsies et 79 résections chirurgicales (27).



**Figure 2 : Fréquence de l'expression de PD-L1 en fonction du type de prélèvement**  
Tiré de Illie et al (26)

Même au sein d'une biopsie, on retrouve une importante hétérogénéité (25). Enfin certaines études retrouvent jusqu'à 38% de discordance entre le statut PD-L1 sur la tumeur primitive et sur les métastase ganglionnaires (28). Callea et al ont montré une différence entre l'expression de PD-L1 sur la tumeur primitive et l'expression de PD-L1 sur les métastases des cancers du rein à cellule claire (29).

Certains ont émis l'hypothèse que l'expression de PD-L1 serait dépendante du temps. Si, au niveau physiopathologique, ce mécanisme a été décrit il reste controversé. Certaines études rapportent une modification du statut PD-L1 après une chimiothérapie ou une radiothérapie (30,31). Ce qui n'est pas confirmé par toutes les études (32).

### **1.3.1.2 Conditionnement des biopsies**

L'étape pré-analytique semble jouer un rôle important dans la réalisation des tests immunohistochimiques. Des différences de protocole à ce niveau entraînent une perte de reproductibilité des résultats. Concernant les biopsies bronchiques, il est proposé de les fixer entre la 6<sup>e</sup> et la 24<sup>e</sup> heure après le prélèvement. Il semble, selon Ilie et al, que l'expression de PD-L1 avec le SP142 est modifiée lorsque la fixation a lieu dans les six premières heures ou après les quarante-huit premières heures (33,34).

Synthèse : Le risque principal de ces difficultés méthodologiques et techniques réside essentiellement dans le risque de faux négatifs.

## **1.3.2 Caractéristiques du test immunohistochimique**

L'immunohistochimie est la technique de choix pour l'évaluation de PD-L1. C'est un test relativement rapide permettant de localiser le signal au niveau cellulaire.

### **1.3.2.1 Les clones**

Les cinq principaux clones permettant la réalisation des tests PD-L1 sont produits par Dako pour le clone 22C3 et 28-8, par Ventana pour le clone SP142 et SP263, et enfin par Cell Signaling Technology pour le clone E1L3N. Les différents clones disponibles n'ont pas la même cible. Certains clones ciblent les épitopes intracellulaires de PD-L1 (par exemple les clones SP142 et E1L3N), d'autres ciblent les épitopes extracellulaires de PD-L1 (par exemple le clone 28-8). L'implication de ces différences n'a pas été évaluée.

### **1.3.2.2 Localisation du signal**

La localisation du signal pris en compte dans les études est membranaire. Néanmoins une fixation cytoplasmique importante peut être source de difficultés d'interprétation. Une

étude rapporte une meilleure performance des marquages intra-cytoplasmiques de PD-L1 pour localiser le signal au niveau membranaire (35).

Enfin l'analyse de l'aspect du signal immunohistochimique est un déterminant de la nature de l'expression de PD-L1. En effet un signal diffus est plus en faveur d'une activation innée par le tissu tumoral de PD-L1. Un signal en cluster est en faveur d'une activation acquise localisée, probablement médiée par l'IFN-gamma présent dans l'infiltrat inflammatoire (36).

### **1.3.2.3 Les méthodes de révélations**

Les systèmes de révélation sont différents pour chaque anticorps avec une optimisation du signal différente selon les plateformes d'analyse. Les différences de signal observées par les anatomopathologistes entre le système Optiview de Dako et le système Ultraview de Ventana n'ont pas été spécifiquement évaluées (37). Enfin les kits de révélation, recommandés par chacun des laboratoires, sont différents.

### **1.3.2.4 La construction du score**

Les différents tests évaluant le statut PD-L1 sont développés comme des tests compagnon de chaque immunothérapie. En fonction des résultats dans les essais de phase I et II, les différents laboratoires ont développé des scores de positivité différents rendant la comparaison entre les études compliquée. Ces éléments ont été évoqués dans la partie 1.2 et sont synthétisés ci-dessous (Tableau 1).

Le clone 28-8 développé par Dako est le test utilisé dans les études sur le nivolumab. Les limites de significativité, en fonction des études, sont 1%, 5% ou 10% de cellules tumorales exprimant le PD-L1. Lors de l'essai CHECKMATE 026 le seuil retenu est 5%.

Le clone 22C3 développé par Dako est l'anticorps utilisé dans les études concernant le pembrolizumab. La limite de significativité retenue est de 50% de cellules tumorales exprimant le PD-L1. Cette stratégie a permis à ce test de devenir le premier test compagnon avec une valeur prédictive suffisante en première ligne.

Le clone SP142 développé par Ventana est l'anticorps utilisé dans les études sur l'atezolizumab. Le score développé prend en compte le pourcentage de fixation sur les cellules tumorales et immunitaires.

Test	Dako 22C3	Dako 28-8	Ventana SP142
Développé comme test compagnon de	Pembrolizumab (Merck Sharp & Dohme)	Nivolumab (Bristol-Myers Squibb)	Atezolizumab (Genentech)
Plateforme	DakoAutostainer Link 48	DakoAutostainer Link 48	VENTANA BenchMark ULTRA
Anticorps anti-PD-L1	Clone 22C3 (souris)	Clone 28-8 (lapin)	Clone SP142 (lapin))
Localisation du signal	Surface des cellules tumorales	Surface des cellules tumorales	Cellules tumorales et immunitaires
Limite des scores de positivité	≥1%; ≥50% des cellules tumorales	≥1%; ≥5%; ≥10% des cellules tumorales	≥50% des cellules tumorales ou ≥10% des cellules immunitaires

**Tableau 1 : Caractéristiques des différents clones**  
d'après Ratcliffe et al (38)

#### **1.4 Les études comparatives des différents clones**

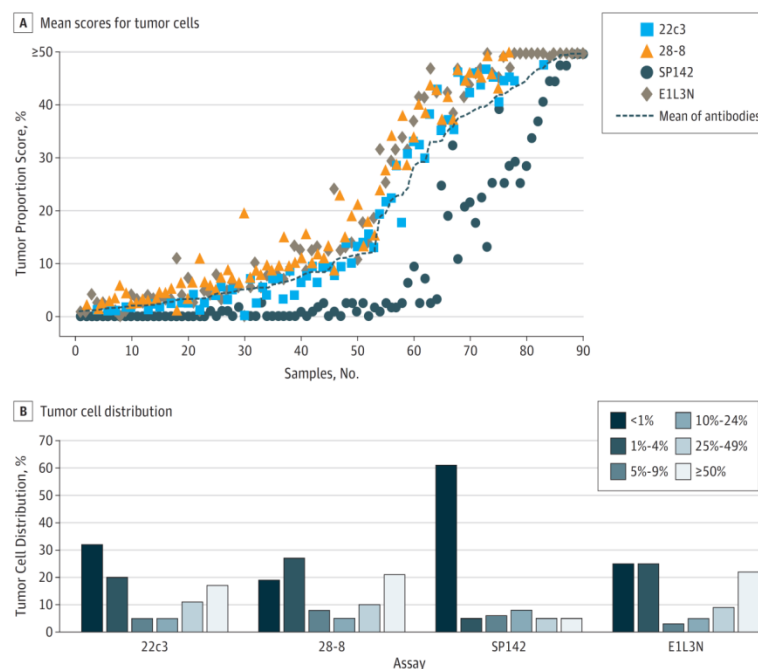
L'étude de Mclaughlin et al (25) montre que 25 % des échantillons tumoraux testés positifs avec un clone peuvent être négatifs avec un autre. Dans leur étude comparant le clone SP142 et le clone E1L3N, le coefficient de concordance kappa est faible. L'évaluation par immunofluorescence quantitative ne donne pas de meilleur résultat avec notamment un coefficient de corrélation entre 0.189 et 0.340 concernant l'évaluation des lymphocytes infiltrant la tumeur. Certaines études ont montré de faibles corrélations entre les 5 principaux clones avec des coefficients de concordance kappa entre 0.47 et 0.50 sur 13 échantillons de carcinome épidermoïde (39).

La phase I du Blueprintproject (40) a analysé 39 échantillons de CBNPC avec quatre clones 28-8, 22C3, SP142 et SP263 par trois anatomopathologistes entraînés. Les résultats mettent en évidence une bonne corrélation entre ces différents clones, seul le SP142 semble moins performant. Par ailleurs, la variabilité de l'intensité immunohistochimique sur les cellules tumorales entre les différents clones est plus faible que la variabilité sur les cellules immunitaires.

Des études comparatives ont été réalisées afin d'évaluer la reproductibilité de E1L3N avec les tests de Dako et Ventana. Une étude présente des résultats montrant une sensibilité identique du clone E1L3N et du clone 28-8 lorsque les techniques immunohistochimiques de détection sont semblables (41). Dans une étude comparant l'ensemble des tests disponibles concernant le statut PD-L1, que ce soit pour le marquage des cellules immunitaires ou des cellules tumorales, la concordance entre les différents tests est satisfaisante ( $R^2 = 0.76-0.99$ ) (42). Une autre étude a comparé les clones SP142, E1L3N, 28-8 et 22C3 avec leur technique de révélation respective auprès de 13 anatomopathologistes à partir de 90 biopsies pulmonaires. Les différents clones présentent un score moyen d'expression de PD-L1 identique. Seul le clone SP142 présente un score moyen inférieur que ce soit pour le marquage des cellules tumorales ou immunitaires. Par ailleurs, la concordance inter-anatomopathologiste dans l'évaluation de l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales est satisfaisante avec un coefficient de corrélation intra-classe entre 0.832 (95% CI, 0.820-0.844) et 0.882 (95% CI, 0.873-0.891) (Figure 3). En revanche l'évaluation de l'expression de PD-L1 au niveau des cellules immunitaires est décevante avec un coefficient de corrélation intra-classe entre 0.172 (95% CI, 0.156-0.189) et 0.229 (95% CI, 0.211-0.248) (43).

Ratcliffe et al (38) réalise une étude sur 500 prélèvements de CBNPC sur lesquels le statut PD-L1 sur les cellules tumorales est réalisé à l'aide du clone SP263, 22C3 et 28-8 par deux anatomopathologistes indépendants. La concordance entre les trois tests est significative avec un pourcentage globale de concordance supérieur à 90% quelque soit l'intensité décrite. La concordance entre les deux anatomopathologistes est satisfaisante avec un pourcentage de concordance entre 75-77% pour les intensités < 1% entre 85% et 97% pour des intensités plus élevées.

La comparaison de SP142 et de E1L3N donne des résultats semblables dans le mélanome (44) dans le lymphome B et le cancer du rein à cellule claire (35).



**Figure 3 : Score moyen pour chaque anatomopathologiste et fréquence de distribution des résultats pour l'analyse des cellules tumorales**

Tiré de Rimm et al (43)

Synthèse : Il existe de nombreux facteurs influençant les résultats de ce test immunohistochimique. On peut considérer au vu de la littérature que l'anticorps E1L3N n'est pas inférieur aux anticorps proposés par les différents laboratoires. Enfin des études sont actuellement en cours pour harmoniser les pratiques concernant la réalisation et l'évaluation du statut PD-L1.

## 1.5 Les méta-analyses sur le statut PD-L1

Devant les difficultés de l'évaluation de la valeur prédictive du statut PD-L1 chez les patients traités par immunothérapies, des auteurs ont réalisé des méta-analyses.

Velchetti et al (45) a étudié une cohorte de l'université de Yale incluant 204 patients atteints de CBNPC entre 1988 et 2003 et une cohorte grecque regroupant 340 patients atteints de CBNPC entre 1991 et 2001. Le statut PD-L1 a été réalisé à l'aide du clone 5H1. L'expression de PD-L1 était significativement associée à une survie allongée et une réduction du risque de décès de 39% avec un HR à 0.61 IC95% [0.39-0.95] et un p=0.031 dans la cohorte grecque et un HR =0.63 IC95% [0.40 – 0.98] dans la cohorte de Yale avec un p=0.043.

Passiglia et al (46) réalise une méta-analyse de sept études de phase I à III évaluant le nivolumab, le pembrolizumab, l'atzolizumab et l'avelumab en deuxième ligne. Les patients ont été stratifiés en fonction de leur statut PD-L1 avec un seuil de positivité à 1%. Le critère de jugement était le taux de réponse globale par le score RECIST. L'odds-ratio était de 2.44 IC95% [1.61-3.68] en faveur des patients traités par immunothérapies et ayant un statut PD-L1 positif. Les limitations étaient essentiellement dues aux critères de jugement insuffisant, à l'hétérogénéité des populations étudiées et à l'hétérogénéité des immunothérapies.

La méta-analyse de Abdel-Rahman et al (47) sur douze études a évalué la survie sans progression, la survie globale et des taux de réponse globale. Concernant le taux de réponse globale on retrouvait un odds-ratio à 1.98 IC95% [1.28-3.07] en faveur des patients ayant un statut PD-L1  $\geq$  1% traités par immunothérapie. Cette odds-ratio était de 3.38 [2.23-5.13] pour les patients avec un statut PD-L1  $\geq$  10%. En revanche on ne notait pas de différence significative en termes de survie globale ou de survie sans progression.

Aguiar et al (48) a étudié treize études de phase I à III de différentes immunothérapies en première ligne ou plus et mettait en évidence un bénéfice sur le taux de réponse objective du statut PD-L1. Sur six études il mettait en évidence une différence significative de la survie sans progression entre les patients PD-L1 positif et négatif avec un taux à 24 semaines de 35% contre 26%. L'odds-ratio était à 0.79 IC95% [0.71-0.89] avec un p < 0.01. L'étude souffrait d'une certaine hétérogénéité.

Synthèse : Ces méta-analyses sont limitées par une grande hétérogénéité rendant leurs interprétations difficiles. Elles mettent en évidence une valeur prédictive du statut PD-L1 en terme de taux de réponse globale.

## **1.6 Les pratiques françaises**

L'administration du nivolumab a été strictement encadrée par l'HAS. La commission de transparence de la Haute Autorité de Santé du 3 février 2016 résume ainsi les pratiques françaises :

« Le nivolumab a été mis à disposition en France pour le traitement du cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) via des autorisations temporaires d'utilisation (ATU) nominatives depuis janvier 2015, puis via une ATU de cohorte dans le traitement en monothérapie des patients adultes ( $\geq 18$  ans) atteints d'un CBNPC de type épidermoïde de stade IIIb ou IV, après échec d'au moins une ligne de traitement à base de sels de platine depuis mai 2015. En juin 2015, une ATU de cohorte a été octroyée avec un libellé plus large : Traitement en monothérapie des patients adultes ( $\geq 18$  ans) atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules de stade IIIb ou IV après échec d'au moins une ligne de traitement à base de sels de platine. Pour les patients avec une mutation EGFR ou un réarrangement ALK, la maladie doit être en progression sous un traitement approuvé pour ces anomalies avant de recevoir nivolumab. »

Enfin le 11 janvier 2017 elle affirme que :

« Le nivolumab est un traitement de deuxième ligne du cancer bronchique non à petites cellules de type non épidermoïde localement avancé ou métastatique après échec d'une chimiothérapie antérieure chez des patients avec un score ECOG de 0 ou 1. »

## **1.7 L'objectif de l'étude**

L'objectif de cette étude est d'évaluer la survie globale des patients présentant un cancer bronchique non à petite cellule métastatique traité par nivolumab en deuxième ligne ou plus en fonction du statut PD-L1 réalisé à l'aide du clone E1L3N.



## **2. METHODOLOGIE**

### **2.1 Les données**

#### **2.1.1 Les patients**

L'ensemble des patients ayant bénéficié d'un traitement par nivolumab dans le service de Pneumologie du CHU Bordeaux entre mai 2015 et Novembre 2016 sont inclus de façon rétrospective. La liste des patients est établie par l'intermédiaire du logiciel de prescription de chimiothérapie CHIMIO® développé par Computer Engineering®. La requête transversale réalisée est : «Thérapie : Nivolumab» et «Statut : Administré» et «Identifiant : Service de Pneumologie du CHU de Bordeaux».

Le critère d'inclusion est: administration d'au moins une injection par nivolumab. Les critères d'exclusion sont: les patients ayant bénéficié du nivolumab dans le cadre d'un essai thérapeutique ou ayant reçu une immunothérapie en première ligne.

#### **2.1.2 Les données anatomopathologiques et cliniques**

Chaque patient est entré dans la base de données par l'intermédiaire d'un CRF (Case Report Form ou cahier d'observation) dont la liste des items a été pré-établie.

Les stades au diagnostic sont recueillis sur le premier scanner au diagnostic ou sur le compte-rendu d'anatomopathologie chez les patients opérés. Ils sont définis à l'aide de la classification TNM version 2009. Le statut tabagique est recueilli au diagnostic sur le premier compte-rendu de la réunion de concertation pluri-disciplinaire (RCP). Les données cliniques sont recueillies dans le dossier informatisé du patient au CHU de Bordeaux. Les types histologiques sont recueillis sur les comptes rendus d'anatomopathologie. L'état général est défini par le performance status (PS) du Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). Le PS le plus élevé dans les 3 mois précédents la mise sous traitement est relevé. Les informations concernant les traitements (type, nombre, date d'arrêt et de fin) sont recueillies à l'aide du logiciel CHIMIO®. La présence de métastases à la mise sous immunothérapie est évaluée sur le scanner précédent la première administration (baseline). Les effets secondaires sont exprimés en fonction des grades proposés par le NCICTACE. Seuls les grades III sont relevés.

### **2.1.3 Les données radiologiques**

L'ensemble des scanners des patients est relu pour la réalisation du score RECIST 1.1 pour chaque patient. Les scanners sont évalués en fonction du scanner baseline. Une progression scannographique correspond à une augmentation  $\geq 20\%$  de la somme des diamètres des lésions cibles par rapport à la plus petite somme des diamètres observées durant l'étude (nadir). En plus de cette augmentation relative de 20%, cette somme doit augmenter d'au moins 0,5 cm. Enfin l'apparition d'une ou plusieurs nouvelles lésions est considérée comme une progression. Une réponse partielle correspond à une diminution d'au moins 30 % de la somme des diamètres des lésions cibles par rapport à la somme initiale (au scanner baseline) des diamètres. Une réponse complète correspond à une disparition de toutes les lésions. Une réponse stable correspond à toutes les réponses hormis les réponses en progression, réponses partielles ou réponses complètes.

## **2.2 Le protocole de service**

Le nivolumab est délivré à la dose de 3 mg/kg tous les 15 jours après une RCP validant les indications en fonction des recommandations de l'ANSM et de l'HAS. Le scanner baseline doit être réalisé dans les 4 semaines précédant la première injection. Un bilan biologique complet doit dater de moins de 10 jours avant la 1<sup>ère</sup> injection. Le traitement est délivré en hôpital de jour après un examen clinique. La réévaluation scannographique est prévue tous les deux mois et suivie d'une consultation. La décision d'arrêt du traitement est prise lors d'une RCP.

## **2.3 Le protocole pour les tests anatomopathologiques**

Les prélèvements, fixés en bloc de paraffine et conservés à basse température, sont récupérés dans les archives. Des lames blanches de 3 micromètres sont réalisées avec un témoin positif comparatif (placenta). Les immunohistochimies (IHC) sont réalisées sur un automate LEICA avec le kit de révélation de LEICA. Ce protocole est réalisé à l'aide du clone : PDL1 (E1L3N®) XP® Rabbit mAb développé par Cell Signaling Technology®. Actuellement il n'est validé que pour la recherche soit le statut RUO (research use only). Les pourcentages des cellules tumorales exprimant PD-L1 et les pourcentages des cellules immunitaires

exprimant PD-L1 pour chaque patient sont recueillis par un anatomopathologiste en aveugle des résultats radio-cliniques. Le nombre de cellules tumorales analysées supérieur à 100 a été pris en compte. Les résultats concernant les cellules tumorales sont répartis en trois catégories :

- < 1% des cellules tumorales expriment PD-L1.
- $\geq 1\%$  et < 50% des cellules tumorales expriment PD-L1.
- $\geq 50\%$  de cellules tumorales expriment PD-L1.

Les résultats concernant les cellules immunitaires sont exprimés en deux catégories :

- < 1% de cellules immunitaires expriment PD-L1.
- $\geq 1\%$  de cellules immunitaires expriment PD-L1.

## **2.4 Les statistiques**

Les analyses de survie, les courbes de Kaplan-Meier, les tests du Log-rank et le modèle de Cox sont réalisées à l'aide du logiciel R et du package « Survival ». Le logiciel XLSTAT est utilisé pour l'analyse des meilleures réponses selon RECIST, pour le test exact de Fisher, pour l'analyse des corrélations et pour la régression logistique avec une loi binomiale pour l'étude du statut PD-L1 en fonction de la réponse selon RECIST.

## **3. RESULTATS**

### **3.1 Les caractéristiques descriptives de la population étudiée**

Soixante-dix patients sont inclus dans l'étude. La médiane de suivi à partir du diagnostic est de 14.2 mois (IQR 9.3-17.9). La médiane de suivi à partir de l'instauration du traitement par immunothérapie est de 6.2 mois (IQR 3.5-10.5).

#### **3.1.1 Paramètres cliniques**

Cinquante (71%) patients sont des hommes, l'âge médian est de 64 ans (IQR58-68). 30 (42%) patients ont un tabagisme sévère au diagnostic et 38 (54%) ont un tabagisme toujours actif. 49 (70%) patients présentent un adénocarcinome et 21 (30%) un carcinome épidermoïde. 47 (67%) patients sont diagnostiqués en stade IV. 35 (50%) patients présentent un PS à 1 et 35 (50%) supérieur à 2 dans les mois précédant la mise en route de l'immunothérapie. On note que 4 (5.7%) patients ont un PS > 2 dans les mois précédant la mise en place de l'immunothérapie. 20 (29%) patients présentent une métastase cérébrale au moment de l'immunothérapie (Tableau 2).

#### **3.1.2 Les traitements antérieurs**

Les patients reçoivent tous une première ligne de chimiothérapie. 69 (98%) d'entre eux reçoivent un doublet de chimiothérapie avec un sel de platine. On note que 13 (18%) patients bénéficient d'une chirurgie et 11 (15.7 %) d'une radiothérapie concomitante. 6 (8.6%) patients reçoivent parmi les traitements antérieurs à l'immunothérapie du bevacizumab et 9 (12.9%) reçoivent un traitement par thérapie ciblée (Tableau 2).

#### **3.1.3 L'administration du nivolumab**

Trente-huit (54%) patients reçoivent du nivolumab en deuxième ligne, 29 (42%) en troisième ligne, 3 (4%) en quatrième ligne. La quantité médiane de cures est de 8.5 (IQR 4-16). 5 patients ont des effets secondaires NCICTACE grade III attribué au nivolumab (Tableau 3) Tableau 3.

### 3.1.4 Le statut PD-L1 sur les cellules tumorales

Deux biopsies présentant moins de 100 cellules tumorales sont incluses dans l'analyse. 19 (27.1%) patients ont un statut PD-L1 inconnu, 28 (40%) ont un statut PD-L1 < 1%, 15 (21.5%) ont un statut PD-L1  $\geq$  1% et < 50% et 8 (11.4%) ont un statut PD-L1  $\geq$  50% (Tableau 3).

### 3.1.5 Les Réponses selon RECIST

Cinq patients n'ont pas bénéficié d'un scanner de réévaluation, deux sont perdus de vue et trois sont décédés. Les meilleures réponses selon RECIST se présentent ainsi : 33 (47,1%) progressions, 18 (25,7%) maladies stables, 19 (27,1%) réponses partielles ou réponses complètes. A la fin du suivi, 47 (67%) patients présentent une progression scannographique (Tableau 3). 37 (52 %) patients sont décédés à la fin du recueil des données.

		N = 70	Pourcentage %
<b>Sexe</b>			
	Homme	50	71.4
	Femme	20	28.6
<b>Tabagisme</b>			
	Jamais	1	1.4
	Sevré	30	42
	Actif	38	54
<b>Histologie</b>			
	Adénocarcinome	49	70
	Carcinome épidermoïde	21	30
<b>Stade au diagnostic</b>			
	IA	1	1.4
	IIA	5	7.1
	IIB	2	2.9
	IIIA	10	14.3
	IIIB	5	7.1
	IV	47	67.1
<b>Chirurgie</b>			
	Oui	13	18.6
<b>Radiothérapie concomitante</b>			
	Oui	11	15.7
<b>Traitement antérieur</b>			
	Doublet sel de platine	69	98
	Traitement de maintenance	34	48.6
	Thérapie ciblée	6	8.6
	Bévacizumab	9	12.9
<b>PS</b>			
	1	35	50
	2	31	44.3
	3	4	5.7
<b>Métastase cérébrale</b>			
	Oui	20	29

**Tableau 2 : Caractéristiques cliniques, histologiques et radiologiques de la population étudiée**

	Modalités	Effectif par modalité (n)	Fréquence par modalité (%)	Borne inf. des freq. (95%)	Borne sup. des freq. (95%)
Nivolumab en 2 <sup>ème</sup> ligne	oui	38,0	54,3	42,6	66,0
	non	32,0	45,7	34,0	57,4
Meilleure réponse selon RECIST	Progression	28,0	40,0	28,5	51,5
	réponse stable	18,0	25,7	15,5	36,0
	réponse partielle/complète	19,0	27,1	16,7	37,6
	Non connu	5,0	7,1	1,1	13,2
Statut PD-L1 sur les cellules tumorales	<1%	28,0	40,0	28,5	51,5
	≥1% et <50%	15,0	21,5	11,8	31,0
	≥ 50%	8,0	11,4	4,0	18,9
	indéterminé	19,0	27,1	16,7	37,6

**Tableau 3 : Caractéristiques de l'administration du nivolumab, de la meilleure réponse selon RECIST et du statut PD-L1 sur les cellules tumorales**

### **3.2 Les facteurs cliniques influençant la survie globale**

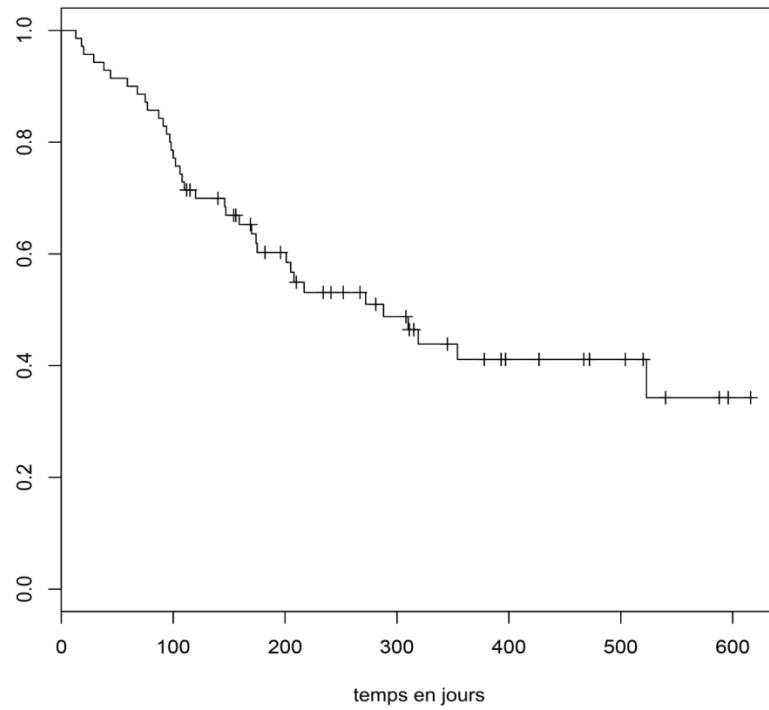
La médiane de survie à partir de l'initiation de l'immunothérapie est de 288 jours IC95% [175-NA] (Figure 4).

La survie globale est meilleure dans le groupe PS = 1 contre PS ≥ 2 avec une survie médiane de 523 jours IC95% [319 – NA] contre une médiane de survie à 208 jours IC95% [108-NA]. Le log-rank est significatif avec un p=0.038. Le hazard ratio est à 0.38 IC95% [0.19-0.76] p=0.006 (Figure 5).

La médiane de survie des patients traités par nivolumab en deuxième ligne semble supérieure à la survie médiane des patients traités en 3<sup>e</sup> ligne avec 354 jours IC95% [205-NA] contre 208 jours IC95% [146-NA] et un hazard ratio à 0.70 IC95% [0.36-1.34] et un p=0.28 (Figure 6).

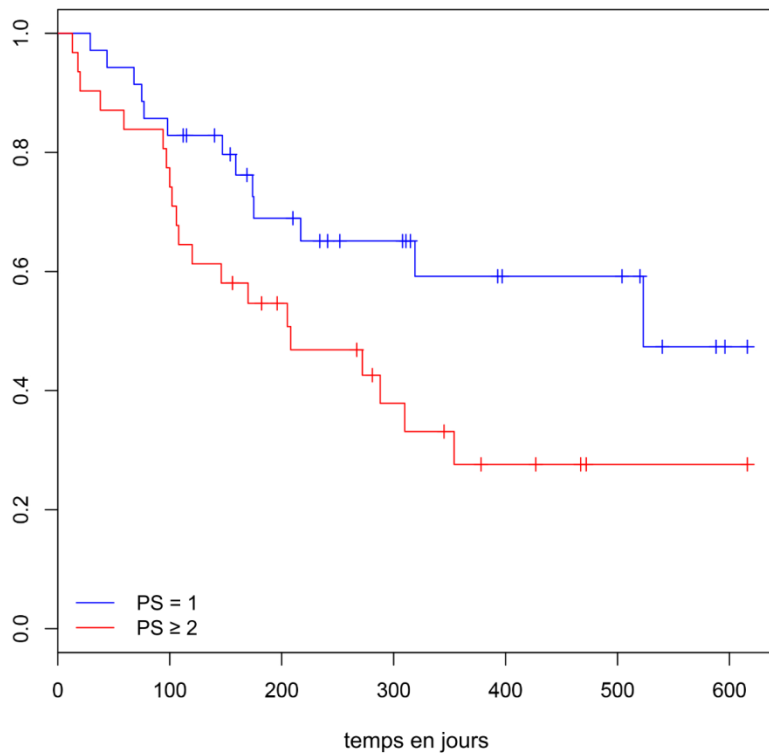
Il n'y a pas de différence de survie entre les groupes tabagisme actif et tabagisme sévère, entre le groupe chirurgie, radiothérapie concomitante et chimiothérapie seule, entre la présence de métastase cérébrale ou non (Annexe 4, Annexe 5, Annexe 6, Annexe 7)

**Survie globale**



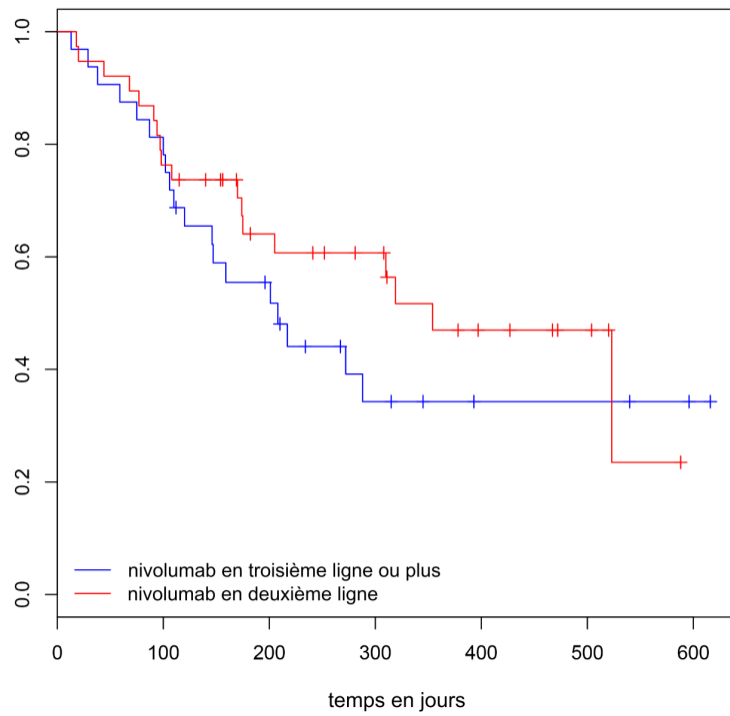
**Figure 4: Survie globale de la population étudiée**

**Survie globale en fonction du performance status**



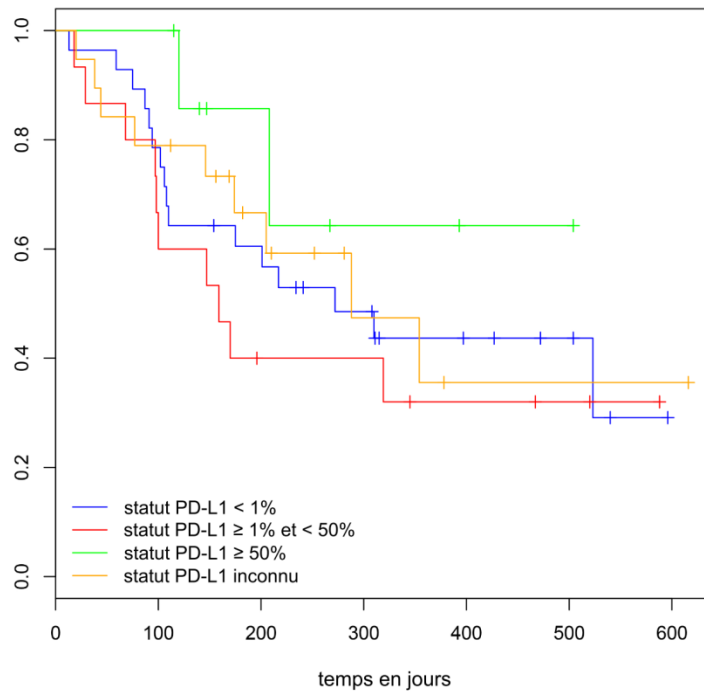
**Figure 5 : Survie globale des patients en fonction du performance status**

**Survie globale en fonction de la ligne de nivolumab**



**Figure 6 : Survie globale des patients en fonction de la ligne d'administration du nivolumab**

**Survie globale en fonction du statut PD-L1**



**Figure 7 : Survie globale des patients en fonction du statut PD-L1 sur les cellules tumorales**



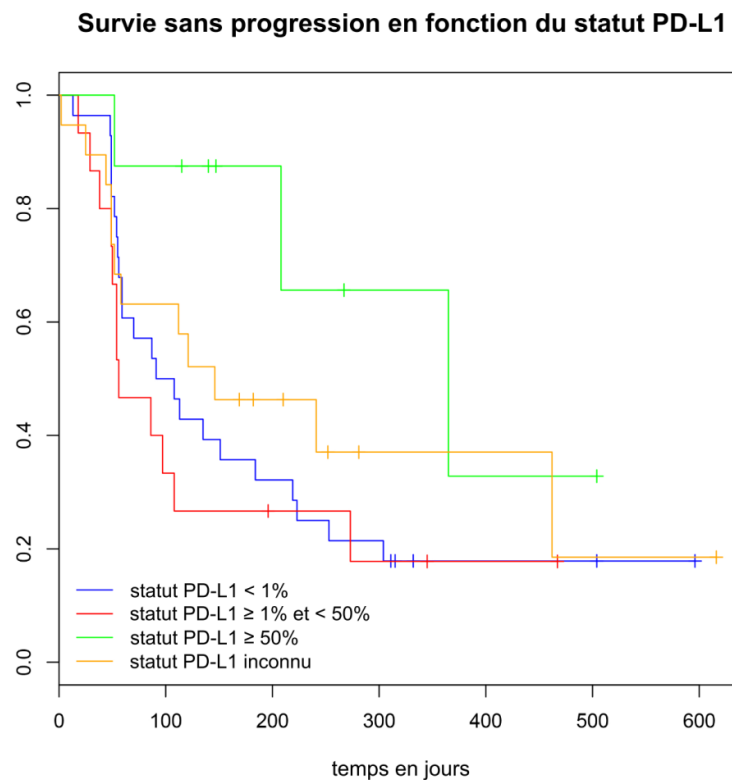
### 3.3 Les caractéristiques du statut PD-L1 sur les cellules tumorales

#### 3.3.1 La survie globale

La survie globale n'est pas significativement différente entre les différents sous-groupes du statut PD-L1 sur les cellules tumorales avec un hazard ratio à 0.94 et  $p=0.6$ . La médiane n'est pas franchie pour le groupe statut PD-L1  $\geq 50\%$ , contrairement aux autres groupes (Figure 7).

#### 3.3.2 La survie sans progression

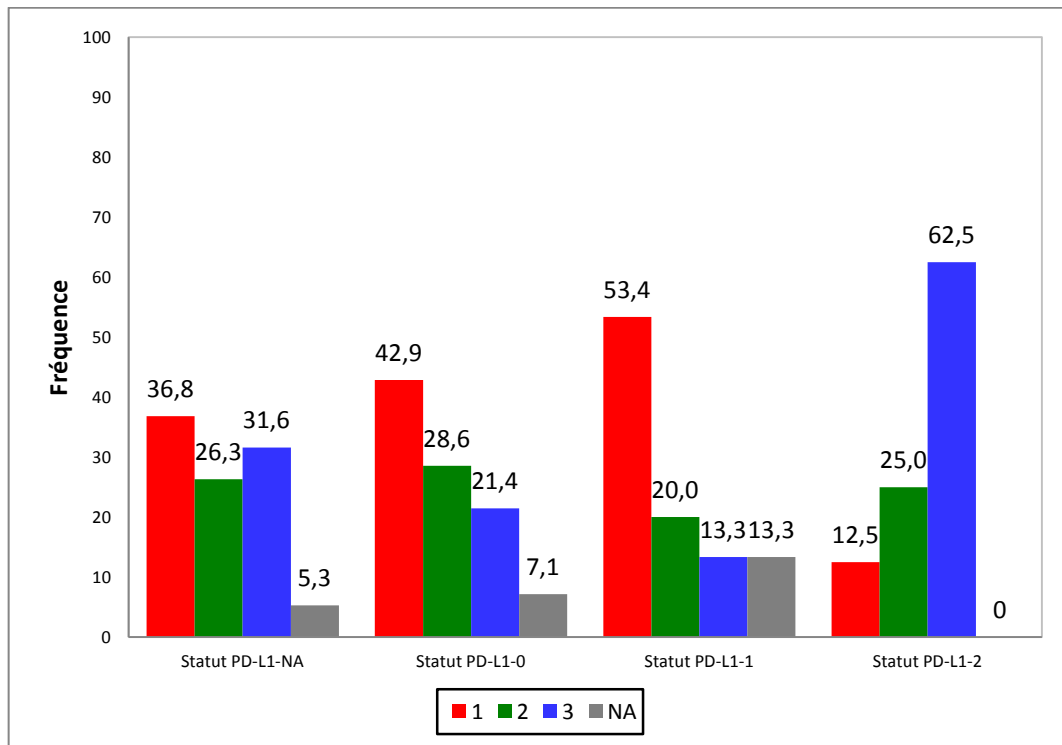
La survie sans progression n'est pas significativement différente entre les groupes du statut PD-L1 réalisé sur les cellules tumorales. On constate néanmoins que le groupe statut PD-L1  $\geq 50\%$  sur les cellules tumorales semble avoir une médiane de survie supérieure à 365 jours IC95% [208-NA] contre 56 jours IC95% [50-NA] pour le groupe statut PD-L1  $\geq 1\%$  et  $<50\%$  et 99.5 jours IC95% [59-223] pour le groupe statut PD-L1  $< 1\%$ . Le test du Log-rank retrouve un  $p=0.17$  (Figure 8).



**Figure 8: Survie sans progression des patients en fonction du statut PD-L1 sur les cellules tumorales**

### 3.3.3 La réponse selon RECIST

Les réponses selon RECIST sont analysées en fonction des statuts PD-L1 sur les cellules tumorales. 68% des patients présentant un statut PD-L1 supérieur ou égale à 50% ont une réponse partielle ou complète contre 32% lorsque le statut est inconnu, 13% quand le statut PD-L1 est entre 1% et 50% et 21% lorsque le statut PD-L1 est inférieur à 1% (Figure 9).



statut PD-L1-NA : inconnue ; statut PD-L1-0 < 1%, 2 : statut PD-L1-1  $\geq$  1% et < 50%, 3 : statut PD-L1-2  $\geq$  50%

Rouge : PD : Progression, Vert : SD, stabilité, Bleu : PR : partielle ou complète, gris : inconnue

**Figure 9 : Meilleure réponse selon RECIST en fonction du statut PD-L1 sur les cellules tumorales**

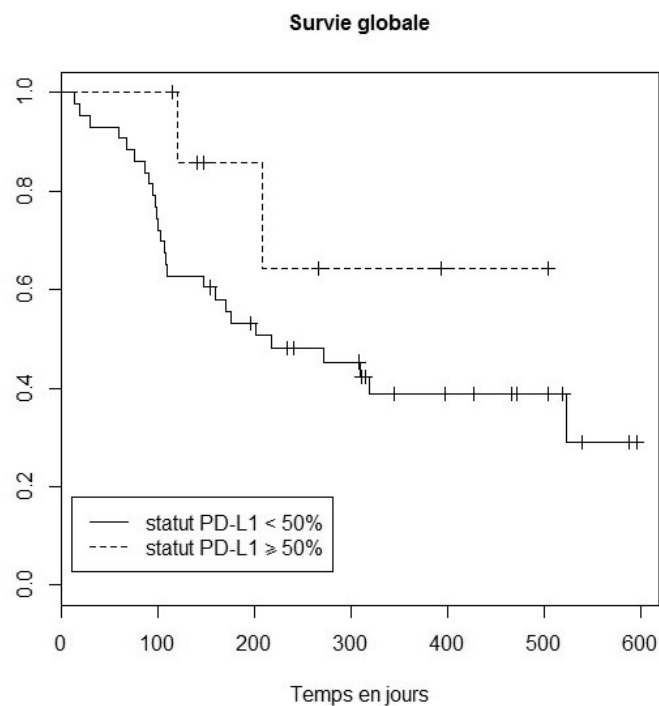
### 3.3.4 Caractéristiques des patients au statut PD-L1 inconnu

19 patients, soit 27.1 % n'ont pas de matériel suffisant pour la réalisation d'un test PD-L1. On ne retrouve pas de corrélation entre l'ancienneté de la biopsie et l'absence de statut PD-L1. La comparaison des groupes « présence d'un statut PD-L1 » et le groupe « absence de statut PD-L1 » par le test exact de Fisher est non significatif concernant le groupe carcinome épidermoïde contre carcinome non-épidermoïde, chirurgie contre pas de chirurgie et entre les stades au diagnostic.

### 3.4 L'évaluation du statut PD-L1 $\geq 50\%$ sur les cellules tumorales

#### 3.4.1 Sur la survie globale

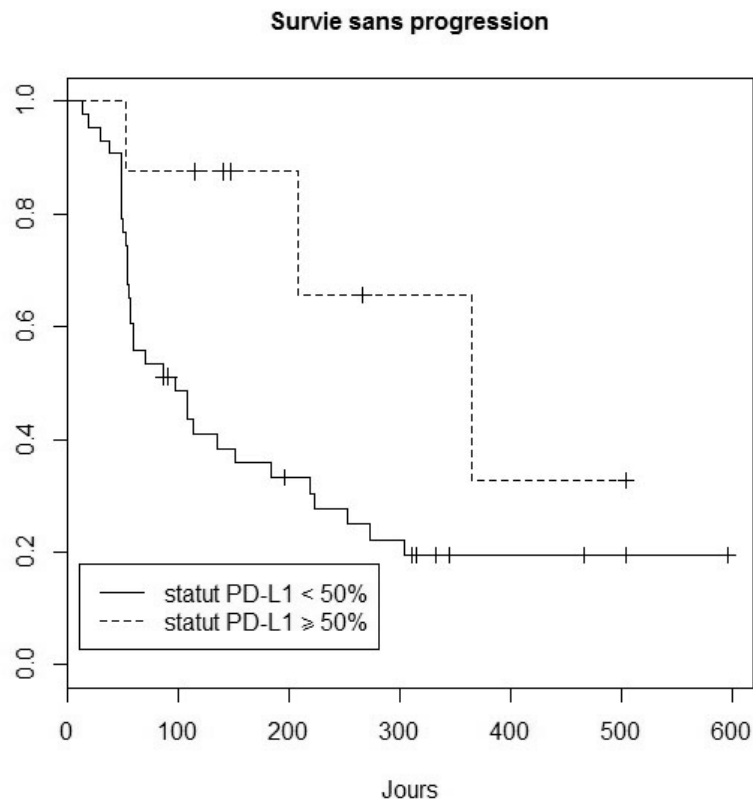
Les patients ayant un statut PD-L1  $\geq 50\%$  sur les cellules tumorales présentent un pourcentage de survie à 200 jours de 65% IC95% [34-100] contre un pourcentage de survie à 200 jours de 51% IC95% [37-68] pour les patients ayant un statut PD-L1  $< 50\%$  sur les cellules tumorales. Le test du Log-rank n'est pas significatif avec un  $p=0.18$  (Figure 10).



**Figure 10 : Survie globale des patients présentant un statut PD-L1  $\geq 50\%$  sur les cellules tumorales versus les patients présentant un statut PD-L1  $< 50\%$**

#### 3.4.2 Sur la survie sans progression

La médiane de survie sans progression est de 97 jours IC95% [56-219] pour le groupe statut PD-L1  $< 50\%$  contre 365 jours IC95% [208-NA] pour le groupe statut PD-L1  $\geq 50\%$ . Le test du Log-rank est non significatif avec un  $p=0.056$  (Figure 11).



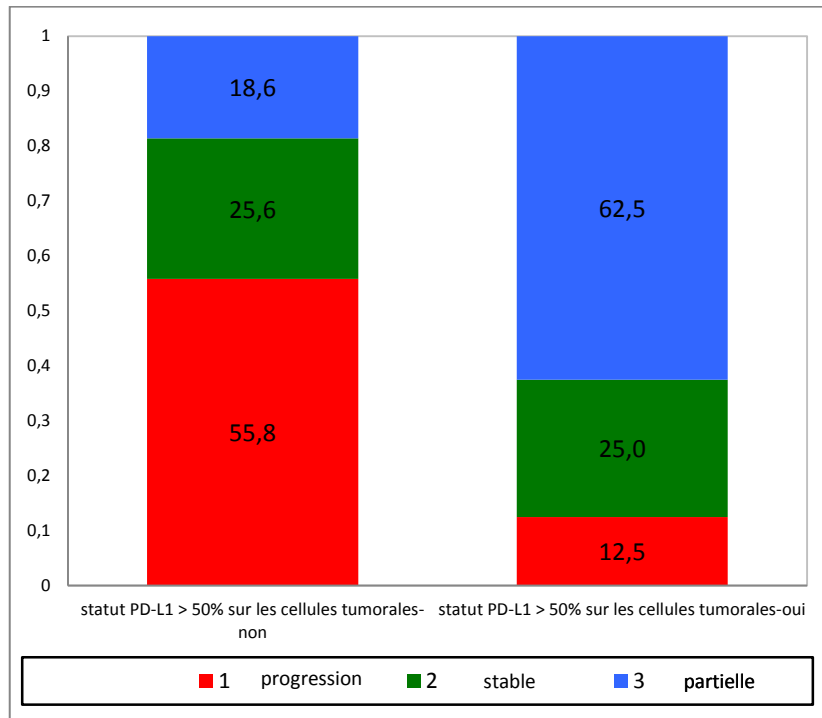
**Figure 11 : Survie sans progression des patients présentant un statut PD-L1  $\geq$  50% sur les cellules tumorales versus les patients présentant un statut PD-L1 < 50%**

### 3.4.3 La réponse selon RECIST

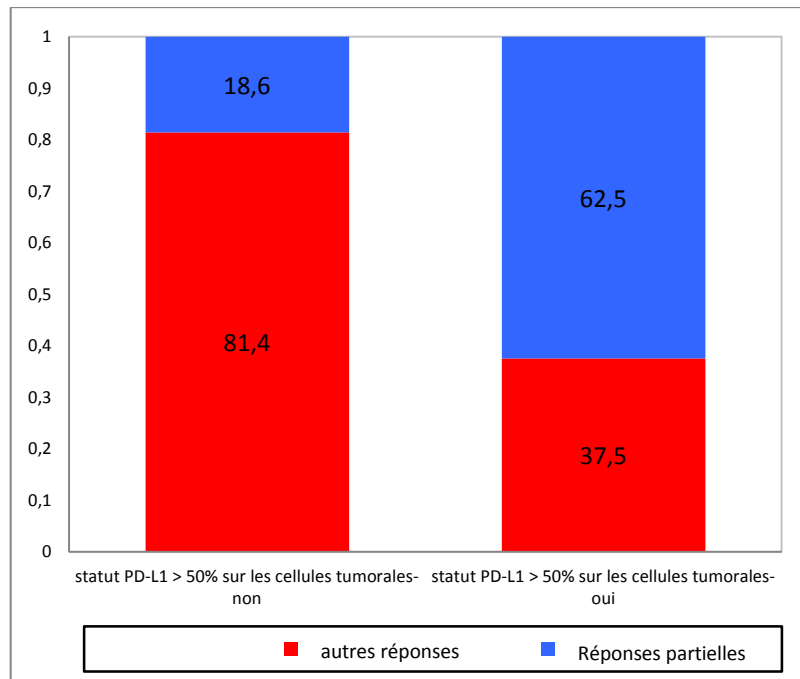
#### 3.4.3.1 Analyse descriptive

Les patients pour qui le statut PD-L1 n'a pu être réalisé n'ont pas été inclus dans ces analyses. Dans le groupe statut PD-L1  $\geq$  50% le taux de réponse stable et le taux de progression est de 25% IC95% [0-55] et 12.5% IC95% [0-35.4], respectivement, et dans le groupe statut PD-L1 < 50% de 25.6% IC95% [12.5-38.6] et 55.8 % IC95% [40.9-70.6], respectivement. Le test exact de Fisher retrouve un  $p=0.016$  (Figure 12, Annexe 9).

Le taux de réponse complète dans le groupe PD-L1  $\geq$  50 % est de 62.5 % contre 18.6% dans le groupe statut PD-L1 < 50%. Le test exact de Fisher retrouve un  $p = 0.019$  (Figure 13, Annexe 10).



**Figure 12 : Taux des meilleures réponses selon RECIST des patients présentant un statut PD-L1  $\geq$  50% sur les cellules tumorales**



**Figure 13 : Taux de réponse partielle/complète des patients présentant un statut PD-L1  $\geq$  50% sur les cellules tumorales (modalité : oui/non)**

### 3.4.3.2 Analyses univariées et multivariées

L'analyse par régression logistique univariée de la réponse partielle ou complète retrouve deux variables significatives : le PS = 1 avec un  $p=0.01$ , le statut PD-L1  $\geq 50\%$  avec un  $p=0.017$ . Le statut tabagisme actif et l'administration du nivolumab en deuxième ligne sont proches de la significativité (Tableau 4

Tableau 4). L'analyse par régression logistique multivariée de ces quatre variables retrouve le statut PS=1 et le statut PD-L1  $\geq 50\%$  comme des facteurs liés significativement à la réponse selon RECIST (

Tableau 5Tableau 5).

Variable	Réponse complète/partielle	Effectif n	%	OR	Borne inf. (95%)	Borne sup. (95%)	p
Homme	non	27	73	1,3	0,3	5,8	0,683
	oui	10	27				
Tabagisme actif	Non	20	69	2,0	0,5	7,7	0,302
	Oui	9	31				
Carcinome épidermoïde	Non	8	66	1,6	0,4	6,8	0,478
	Oui	4	34				
Chirurgie	Non	10	83	0,5	0,09	2,7	0,428
	Oui	2	17				
Bevacizumab	Non	6	60	1,0	0,2	5,5	0,972
	Oui	2	20				
Performance status = 1	Non	16	57	16,5	1,9	140,1	0,010
	Oui	12	43				
Nivolumab en 2° ligne	Non	17	65	2,8	0,7	10,6	0,135
	Oui	9	35				
Statut PD-L1 $\geq 50\%$ sur les cellules tumorales	Non	3	38	7,3	1,4	37,0	0,017
	Oui	5	62				

Tableau 4 : Analyse univariée des facteurs associés aux réponses partielles ou complètes

Variable	Réponse complète/partielle	OR	Borne inf. (95%)	Borne sup. (95%)	p
Tabac actif	non oui	2.1	0.40	10.9	0.372
Performance status = 1	non oui	21.1	1.8	244.7	0.015
Nivolumab en 2° ligne	non oui	3.5	0.6	21.6	0.176
Statut PD-L1 $\geq$ 50 % sur les cellules tumorales	non oui	20.9	1.4	311.3	0.027

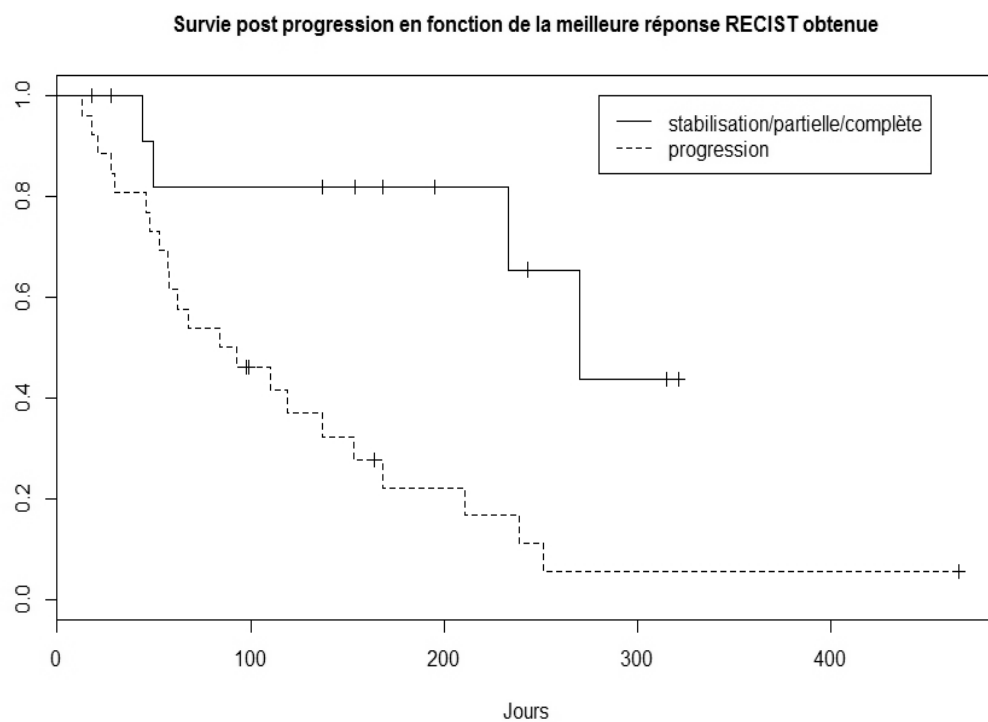
**Tableau 5 : Analyse multivariée des facteurs associés aux réponses partielles ou complètes**

### **3.5 Les effets secondaires**

Cinq patients soit (7%) ont présentés des effets secondaires de grade 3 selon le NCICTACE. Chez 4 d'entre eux ces effets surviennent avant la 6° cure de nivolumab et ont aboutis à un arrêt du traitement. Parmi ces 4 patients on retrouve trois toxicités hépatiques et 1 pneumopathie interstitielle diffuse. Un patient a bénéficié d'un arrêt temporaire de l'immunothérapie pour une pneumopathie interstitielle diffuse.

### **3.6 La survie post progression**

La médiane de survie après la dernière injection de nivolumab est de 117 jours IC95% [60-165]. Parmi les 37 décès, 50% surviennent avant le 56<sup>ème</sup> jour (IQR 32-131). 12 patients, soit 17% reçoivent un traitement par chimiothérapie après le nivolumab. Parmi ces 12 patients, 8 reçoivent du nivolumab en deuxième ligne, 2 patients ont une réponse stable sous chimiothérapie et un patient a une réponse partielle. L'analyse de la survie post-progression retrouve une médiane à 88 jours IC95% [57-168] pour les patients ayant progressé d'emblée et une médiane de survie à 270 jours IC95% [233-NA] pour les patients ayant présenté une maladie stable, une réponse partielle ou une réponse complète avec un test du Log-rank à 0.03 (Figure 14).



**Figure 14 : Survie post progression en fonction de la meilleure réponse selon RECIST**



## **4. DISCUSSION**

### **4.1 Les limites de l'étude**

Cette étude se caractérise par un manque de puissance aggravé par de nombreux résultats manquant sur la variable d'intérêt c'est-à-dire sur le statut PD-L1.

Par ailleurs ce travail rétrospectif souffre de quelques faiblesses méthodologiques pouvant influencer les résultats. Le recueil des réponses selon RECIST n'a pas été réalisé en aveugle des données cliniques.

Enfin, la durée de suivi à partir de l'injection de nivolumab est relativement courte, 6 mois, aboutissant à des censures précoces nécessitant une interprétation prudente des courbes de survie.

### **4.2 La survie globale**

La survie globale est de 9.6 mois IC95% [5.8-NA]. Comparativement les essais CHECKMATE 017 et 057 ont retrouvé une survie globale de 9.2 mois IC95% [7.2-13.3] et 12.2 mois IC95% [9.7-15] respectivement (Annexe 16).

### **4.3 Les caractéristiques des variables clinico-radiologique**

#### **4.3.1.1 Performance status**

La variable performance status a été réparti en deux catégorie PS=1 et PS  $\geq$  2. Le moins bon PS dans les 3 mois précédant l'administration du NIVOLUMAB a été recueillie pour chaque patient. Le PS est un facteur pronostic essentiel de survie des CBNPC. Les études sur les immunothérapies citées dans l'introduction ont comme critère d'inclusion PS 0 ou 1. L'HAS et l'ANSM recommande d'ailleurs un PS 0 ou 1 pour pouvoir bénéficier d'un traitement par immunothérapie. La prise en compte du moins bon PS sur les 3 mois précédent la mise sous immunothérapie permet de nous affranchir des biais d'évaluation au moment de la RCP. Le résultat est sans appel, les patients présentant un état général altéré c'est-à-dire supérieur à 2 ont une survie très nettement diminuée. Le taux de réponse

complète ou partielle semble inférieur dans le groupe PS  $\geq 2$  par rapport au groupe PS = 1 (Annexe 12).

#### **4.3.1.2 Métastase cérébrale**

De façon surprenante les patients présentant une ou plusieurs métastases cérébrales ont une survie équivalente aux patients ne présentant pas de métastase cérébrale. Les critères d'inclusion des études sur les CBNPC et notamment sur les immunothérapies ont des critères stricts concernant les métastases cérébrales. Les critères retenus habituellement sont les métastases asymptomatiques, stable et/ou traités. Habituellement la stabilisation de la métastase cérébrale est requise (nivolumab). Il s'agit probablement d'un biais d'inclusion. Les patients sélectionnés lors des RCP présentaient probablement ces caractéristiques expliquant le peu d'impact sur la survie.

#### **4.3.1.3 Statut tabagique**

L'information la plus fiable concernant le recueil du statut tabagique était la première RCP. 99% des patients inclus sont fumeurs. L'absence de patient non-fumeur ne nous a pas permis d'évaluer ce paramètre. L'étude de la différence de survie globale entre les patients sevrés au diagnostic et les patients ayant un tabagisme actif n'apporte pas d'information supplémentaire. La littérature est contradictoire. Certaines études retrouvent une association entre le tabagisme et le statut PD-L1 (49) ce que d'autres articles ne retrouvent pas (26).

#### **4.3.1.4 Traitements antérieurs**

Les patients ayant bénéficié d'un traitement curatif (chirurgie ou radio-chimiothérapie) ou d'un traitement palliatif d'emblée (chimiothérapie seule) avant la mise sous nivolumab ne semblent pas avoir des survies, à partir de la première injection de nivolumab, différentes. Le traitement par nivolumab était administré au patient échappant à au moins une première ligne de chimiothérapie. L'état d'avancement de la maladie au moment de l'injection de nivolumab était donc semblable pour chaque patient.

#### **4.3.1.5 Types histologique**

L'analyse des courbes de survies entre les patients porteurs d'un carcinome non épidermoïde et ceux porteurs d'un carcinome épidermoïde ne retrouve pas de différences

significatives. L'essai CHECKMATE 012 de phase 1 qui a évalué le nivolumab en première ligne a retrouvé des différences, en terme de survie globale, qu'il est difficile d'attribuer au nivolumab. La survie habituellement supérieure des patients porteurs d'un adénocarcinome par rapport aux patients porteurs d'un carcinome épidermoïde est en partie attribuable au taux de réponse en première ligne et aux addictions oncogéniques. Nos patients ont été inclus en deuxième ligne. Dans cette étude il n'y a aucune différence en terme de survie sans progression.

#### **4.4 Les caractéristiques du statut PD-L1**

##### **4.4.1 La réalisation des tests**

La réalisation des tests dans cette étude à l'aide du clone E1L3N s'inscrit dans une démarche de pratique courante. La multiplication de tests compagnons amène à des investissements couteux. Les laboratoires doivent en effet investir dans plusieurs plateformes d'analyses (Dako et Ventana). Le clone de Cell Signaling Technology est actuellement le moins cher du marché, de plus sa plateforme d'analyse est plus couramment utilisée dans les laboratoires.

##### **4.4.2 La justification du score utilisé**

Il semble justifier, au regard des différentes études dans la littérature, de différencier les patients ayant un statut PD-L1  $< 1\%$  et ceux ayant un statut PD-L1  $\geq 50\%$ . Les diverses études semblent toutes différencier les patients ayant un statut PD-L1  $< 1\%$  des autres en raison de résultats inférieurs. Si les études CHECKMATE ont adopté 1%, 5% et 10% comme limite de positivité, seules les études KEYNOTE (notamment KEYNOTE 24) avec la limite de 50% montrent une valeur prédictive du statut PD-L1 sur la survie en première ligne. La réalisation du statut PD-L1 avec le clone E1L3N n'ayant pas été testée par les études KEYNOTE et CHECKMATE, les limites ont été évaluées en fonction des fonctions de survie. Les fonctions de survie et taux de réponse entre le sous-groupe statut PD-L1  $< 1\%$  et le sous-groupe statut PD-L1 entre 1% et 50% semblent identiques dans notre étude. Comparer le sous-groupe statut PD-L1  $\geq 50\%$  et le sous-groupe statut PD-L1  $< 50\%$  nous a semblé judicieux.

La réalisation d'un scoring à l'image des études sur l'atezolizumab, c'est-à-dire en catégories prenant en compte le statut PD-L1 sur les cellules immunitaires et tumorales, n'apporte pas de résultats significatifs (Annexe 14).

#### **4.4.3 Le statut PD-L1 inconnue**

Le pourcentage de statut PD-L1 inconnu (27%) semble légèrement supérieur à celui des données de la littérature. Dans les études CHECKMATE 063, 012, 057 et 017 ce taux est compris entre 12% et 21%. Pour l'essai KEYNOTE 010 le taux était de 18% (Annexe 16). La raison principale est l'absence de tissu exploitable pour la réalisation des tests anatomopathologiques. Cette étude en conditions réelles illustre parfaitement les problématiques liées à l'épuisement des matériels anatomopathologiques.

Il faut signaler que la médiane de survie globale des patients n'ayant pas de statut PD-L1 est de 288 jours IC95% [174-NA]. Ce résultat n'est pas significativement différent des médianes de survie globale des patients ayant un statut PD-L1 surtout lorsque ce dernier est inférieur à 50%. Au vu de ces résultats, l'absence de statut PD-L1 disponible ne paraît pas être un argument pour contre indiquer la prescription du NIVOLUMAB.

#### **4.4.4 Le statut PD-L1 positif**

Dans notre étude le taux de statut PD-L1  $\geq 50\%$  est de 11.4%. Comparativement, l'essai KEYNOTE 010 présente un taux à 23%, l'essai CHECKMATE 012 présente un taux à 23%, l'essai POPLAR un taux à 10% (Annexe 16). La comparaison avec ces données de la littérature est difficile car les tests utilisés sont différents. On sait que les méthodes de révélations de Dako sont plus sensibles que celle de Ventana. D'ailleurs notre taux se rapproche plus de la deuxième méthode. Ceci n'est pas tout à fait conforme au fait que le test E1L3N semble avoir des résultats identiques aux anticorps de Dako. Enfin, dans les études citées plus haut les relectures sont souvent faites par plusieurs anatomopathologistes entraînés, ce qui limite le risque d'erreur d'interprétation.

#### **4.4.5 La survie globale**

Dans le groupe statut PD-L1 sur les cellules tumorales  $\geq 50\%$  la survie médiane n'est pas atteinte. Il ne semble pas y avoir de différence de survie globale entre les groupes statut PD-L1  $< 1\%$  et le groupe statut PD-L1 entre 1 et 50%. L'étude de la survie entre le groupe PD-

L1  $\geq$  50% et le reste de la population montre une différence non significative. Cette absence de significativité peut être expliquée par le manque de puissance.

#### **4.4.6 La survie sans progression**

Le groupe statut PD-L1  $\geq$  50 % semble présenter une médiane de survie sans progression plus élevée que les autres groupes. Cette survie médiane est estimée à 12 mois ce qui est supérieur aux données de la littérature décrite. Cette survie est probablement surévaluée par les nombreux perdus de vue.

#### **4.4.7 Les réponses selon RECIST**

Le taux de réponse partielle ou complète dans le groupe statut PD-L1  $\geq$  50% peut sembler élevé. Dans l'étude CHECKMATE 012 le taux de réponse partielle ou complète dans ce groupe est de 50%. Néanmoins il semble bien qu'il existe un lien statistique entre le statut PD-L1  $\geq$  50% et le taux de réponse partielle ou complète. L'étude la plus performante en la matière est KEYNOTE 24 qui retrouve un taux de réponse complète à 44.8% chez des patients ayant un statut PD-L1  $\geq$  50% et traités par le pembrolizumab.

Néanmoins, on constate que dans le groupe au statut PD-L1 inconnu, le taux de réponse partielle ou complète est de 31.6%. Ce taux varie entre 13% et 39% dans les études CHECKMATE relevées ci-dessous (Annexe 16). Ce taux relativement élevé ne permet pas, en pratique courante, de ne pas administrer le nivolumab au patient dont le statut PD-L1 n'a pu être réalisé.

Les courbes de survie des patients selon la meilleure réponse selon RECIST sont significativement différentes. Parmi les patients ayant eu une progression d'emblée on constate une médiane de survie à 147 jours IC95% [106- 217]. L'ensemble de ces progressions a abouti à un arrêt du nivolumab. Un seul patient dépasse les 300 jours de survie. Pour ce patient l'hypothèse d'une « pseudo-progression » n'est pas exclue. Les critères irRECIST (50) auraient peut-être permis de s'affranchir de cette problématique.

L'analyse univariée et multivariée de la réponse partielle ou complète retrouve comme facteurs associés le statut PD-L1  $\geq$  50% et le score PS = 1.

#### **4.5 La survie post progression**

La survie post progression semble satisfaisante. Il faut, malgré tout, noter que parmi les patients progressant d'emblée, la survie est de 3 mois (88 jours). Ceci souligne le pronostic très défavorable de ce groupe de patients qui ne bénéficie pas de l'immunothérapie.

50% des 37 décès de cette étude surviennent avant le 56<sup>ème</sup> jour après la dernière injection de NIVOLUMAB (Annexe 14). Ce délai, qui pourrait sembler inapproprié pour une chimiothérapie standard en raison de ces effets secondaires, amène à se poser d'autres questions comme la pertinence du rapport coût/efficacité. En effet le prix du traitement, élevé, est une donnée à prendre en compte.

## 5. CONCLUSION

Bien qu'ils soient souvent non significatifs, les résultats de cette étude, menée dans notre service ne semblent pas très différents des résultats des études de phase III ayant validé l'utilisation du NIVOLUMAB ; ce qui est rassurant quant à nos pratiques. Elle apporte également des précisions sur les patients que nous avons traités et qui n'apparaissent pas dans les essais de phase III publiés, notamment les patients ayant un performance status à 2 dans les 3 mois précédent la mise en traitement, les patients ayant des métastases cérébrales ou les patients pour lesquels le statut PD-L1 ne peut être déterminé.

On privilégiera ce type de traitement pour les patients en bon état général et dès la 2<sup>e</sup> ligne. La présence d'un statut PDL1 > 50% confère de meilleurs taux de réponse, et on pourra s'appuyer sur ce point pour utiliser l'immunothérapie dès la 1<sup>ère</sup> ligne chez ces patients, lorsque le PEMBROLIZUMAB sera disponible.

Enfin, l'intérêt de l'étude est l'utilisation du clone E1L3N qui n'a pas été utilisé dans les études de phase III. A notre connaissance, les seules données disponibles sur ce clone sont celles le comparant aux autres. Nous avons ici, pour la 1<sup>ère</sup> fois, des données corrélant le pourcentage de cellules tumorales exprimant le PD-L1 réalisé à l'aide du clone E1L3N avec la réponse au traitement et la survie globale des patients.

## 6. BIBLIOGRAPHIE

1. Quelques chiffres - Cancer du poumon | Institut National Du Cancer [Internet]. [cité 25 févr 2017]. Disponible sur: <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-poumon/Quelques-chiffres>
2. Grivaux M, Debieuvre D, Herman D, Lemonnier C, Marcos J-M, Crequit J, et al. Early mortality in lung cancer: French prospective multicentre observational study. *BMC Pulm Med* [Internet]. 2 avr 2016 [cité 25 févr 2017];16. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4818853/>
3. Barlesi F, Mazieres J, Merlio J-P, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *The Lancet*. avril 2016;387(10026):1415-26.
4. Shepherd FA, Dancey J, Ramlau R, Mattson K, Gralla R, O'Rourke M, et al. Prospective randomized trial of docetaxel versus best supportive care in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-based chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. mai 2000;18(10):2095-103.
5. Hanna N, Shepherd FA, Fossella FV, Pereira JR, De Marinis F, von Pawel J, et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mai 2004;22(9):1589-97.
6. Garon EB, Ciuleanu T-E, Arrieta O, Prabhaskar K, Syrigos KN, Goksel T, et al. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 23 août 2014;384(9944):665-73.
7. Reck M, Kaiser R, Mellemaard A, Douillard J-Y, Orlov S, Krzakowski M, et al. Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1): a phase 3, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 1 févr 2014;15(2):143-55.
8. Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, et al. Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. juillet 2005;353(2):123-32.
9. Cortot AB, Audigier-Valette C, Molinier O, Moulec SL, Barlesi F, Zalcman G, et al. Weekly paclitaxel plus bevacizumab versus docetaxel as second or third-line treatment in advanced non-squamous non-small cell lung cancer (NSCLC): Results from the phase III study IFCT-1103 ULTIMATE. *J Clin Oncol* [Internet]. 2016 [cité 25 févr 2017];34(suppl; abstr 9005). Disponible sur: <http://meetinglibrary.asco.org/content/167643-176>
10. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 25 juill 2013;39(1):1-10.
11. Pai SI, Zandberg DP, Strome SE. The role of antagonists of the PD-1:PD-L1/PD-L2 axis in head and neck cancer treatment. *Oral Oncol*. oct 2016;61:152-8.
12. Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, Stinchcombe TE, Dy GK, Antonia SJ, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol*. mars 2015;16(3):257-65.



13. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 31 mai 2015;
14. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 oct 2015;373(17):1627-39.
15. Peters S, Cappuzzo F, Horn L, Paz-Ares L, Borghaei H, Barlesi F, et al. OA03.05 Analysis of Early Survival in Patients with Advanced Non-Squamous NSCLC Treated with Nivolumab vs Docetaxel in CheckMate 057. *J Thorac Oncol*. 1 janv 2017;12(1):S253.
16. Duruisseaux M, Rouquette I, Adam J, Cortot A, Cazes A, Gibault L, et al. [Efficacy of PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors and PD-L1 testing in thoracic cancers]. *Ann Pathol*. févr 2017;37(1):61-78.
17. Gettinger S, Rizvi NA, Chow LQ, Borghaei H, Brahmer J, Ready N, et al. Nivolumab Monotherapy for First-Line Treatment of Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 27 juin 2016 [cité 30 juin 2016]; Disponible sur: <http://jco.ascopubs.org/cgi/doi/10.1200/JCO.2016.66.9929>
18. Socinski M, Creelan B, Horn L, Reck M, Paz-Ares L, Steins M, et al. NSCLC, metastaticCheckMate 026: A phase 3 trial of nivolumab vs investigator's choice (IC) of platinum-based doublet chemotherapy (PT-DC) as first-line therapy for stage iv/recurrent programmed death ligand 1 (PD-L1)-positive NSCLC. *Ann Oncol* [Internet]. 1 oct 2016 [cité 7 mars 2017];27(suppl\_6). Disponible sur: [https://academic.oup.com/annonc/article/27/suppl\\_6/LBA7\\_PR/2800548/NSCLC-metastaticCheckMate-026-A-phase-3-trial-of](https://academic.oup.com/annonc/article/27/suppl_6/LBA7_PR/2800548/NSCLC-metastaticCheckMate-026-A-phase-3-trial-of)
19. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csósz T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 10 nov 2016;375(19):1823-33.
20. 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*. 27 nov 2014;515(7528):563-7.
21. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 9 mars 2016;
22. Saada-Bouزيد E, Defaucheux C, Karabajakian A, Palomar Coloma V, Servois V, Paoletti X, et al. Tumor's flare-up and patterns of recurrence in patients (pts) with recurrent and/or metastatic (R/M) head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) treated with anti-PD1/PD-L1 inhibitors. *J Clin Oncol*. 20 mai 2016;34(15\_suppl):6072-6072.
23. Champiat S, Derclé L, Ammari S, Massard C, Hollebecque A, Postel-Vinay S, et al. Hyperprogressive Disease Is a New Pattern of Progression in Cancer Patients Treated by Anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res*. 15 avr 2017;23(8):1920-8.
24. Giroux Leprieur E, Dumenil C, Julie C, Giraud V, Dumoulin J, Labrune S, et al. Immunotherapy revolutionises non-small-cell lung cancer therapy: Results, perspectives and new challenges. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990.juin 2017;78:16-23.
25. 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*. 1 janv 2016;2(1):46-54.

26. Ilie M, Long-Mira E, Bence C, Butori C, Lassalle S, Bouhlef L, et al. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances: a potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. janv 2016;27(1):147-53.
27. Kitazono S, Fujiwara Y, Tsuta K, Utsumi H, Kanda S, Horinouchi H, et al. Reliability of Small Biopsy Samples Compared With Resected Specimens for the Determination of Programmed Death-Ligand 1 Expression in Non--Small-Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. sept 2015;16(5):385-90.
28. Uruga H, Bozkurtlar E, Huynh TG, Muzikansky A, Goto Y, Gomez-Caraballo M, et al. Programmed Cell Death Ligand (PD-L1) Expression in Stage II and III Lung Adenocarcinomas and Nodal Metastases. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. mars 2017;12(3):458-66.
29. Callea M, Albiges L, Gupta M, Cheng S-C, Genega EM, Fay AP, et al. Differential Expression of PD-L1 between Primary and Metastatic Sites in Clear-Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res*. oct 2015;3(10):1158-64.
30. Bracci L, Schiavoni G, Sistigu A, Belardelli F. Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer. *Cell Death Differ*. janv 2014;21(1):15-25.
31. Ngiow SF, McArthur GA, Smyth MJ. Radiotherapy complements immune checkpoint blockade. *Cancer Cell*. 13 avr 2015;27(4):437-8.
32. 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*. 19 avr 2015;
33. Ilie M, Hofman V, Dietel M, Soria J-C, Hofman P. Assessment of the PD-L1 status by immunohistochemistry: challenges and perspectives for therapeutic strategies in lung cancer patients. *Virchows Arch*. 1 mai 2016;468(5):511-25.
34. Adam J, Planchard D, Marabelle A, Soria J-C, Scoazec J-Y, Lantuéjoul S. [PD-L1 expression: An emerging biomarker in non-small cell lung cancer]. *Ann Pathol*. janv 2016;36(1):94-102.
35. Mahoney KM, Sun H, Liao X, Hua P, Callea M, Greenfield EA, et al. Antibodies to the cytoplasmic domain of PD-L1 most clearly delineate cell membranes in immunohistochemical staining. *Cancer Immunol Res*. déc 2015;3(12):1308-15.
36. Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer Ther*. 1 avr 2015;14(4):847-56.
37. Hofman V, Ilie M, Long E, Butori C, Lassalle S, Washetine K, et al. Enjeux et limites actuelles de l'évaluation du statut de PD-L1 par immunohistochimie sur des biopsies bronchiques. *Bull Cancer (Paris)*. avril 2016;103(4):368-80.
38. Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, Barker C, Scott M, Scorer P, et al. Agreement between Programmed Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays across Multiple Protein Expression Cutoffs in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 10 janv 2017;
39. 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 Off J U S Can Acad Pathol Inc*. oct 2016;29(10):1165-72.
40. 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.* 1 févr 2017;12(2):208-22.
41. Cogswell J, Inzunza HD, Wu Q, Feder JN, Mintier G, Novotny J, et al. An Analytical Comparison of Dako 28-8 PharmDx Assay and an E1L3N Laboratory-Developed Test in the Immunohistochemical Detection of Programmed Death-Ligand 1. *Mol Diagn Ther.* 2017;21(1):85-93.
  42. Gaule P, Smithy JW, Toki M, Rehman J, Patell-Socha F, Cougot D, et al. A Quantitative Comparison of Antibodies to Programmed Cell Death 1 Ligand 1. *JAMA Oncol.* 18 août 2016;
  43. 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* [Internet]. 9 mars 2017 [cité 21 mars 2017]; Disponible sur: <http://jamanetwork.com/journals/jamaoncology/fullarticle/2608280>
  44. Schats KA, Van Vré EA, De Schepper S, Boeckx C, Schrijvers DM, Waelput W, et al. Validated programmed cell death ligand 1 immunohistochemistry assays (E1L3N and SP142) reveal similar immune cell staining patterns in melanoma when using the same sensitive detection system. *Histopathology.* 1 janv 2017;70(2):253-63.
  45. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, Anagnostou VK, Syrigos KN, Sznol M, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Investig J Tech Methods Pathol.* janv 2014;94(1):107-16.
  46. Passiglia F, Bronte G, Bazan V, Natoli C, Rizzo S, Galvano A, et al. PD-L1 expression as predictive biomarker in patients with NSCLC: a pooled analysis. *Oncotarget.* 22 févr 2016;7(15):19738-47.
  47. Abdel-Rahman O. Correlation between PD-L1 expression and outcome of NSCLC patients treated with anti-PD-1/PD-L1 agents: A meta-analysis. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1 mai 2016;101:75-85.
  48. Aguiar PN, Santoro IL, Tadokoro H, de Lima Lopes G, Filardi BA, Oliveira P, et al. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker in advanced non-small-cell lung cancer: a network meta-analysis. *Immunotherapy.* 2016;8(4):479-88.
  49. D'Incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, Rossi E, Capodanno A, Landi L, et al. PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients. *Br J Cancer.* 6 janv 2015;112(1):95-102.
  50. Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, Weber JS, Hamid O, Lebbé C, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 déc 2009;15(23):7412-20.
  51. 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.* 1 janv 2017;CD-16-0828.
  52. Dunn J, Rao S. Epigenetics and immunotherapy: The current state of play. *Mol Immunol.* 13 mai 2017;87:227-39.
  53. Maio M, Covre A, Fratta E, Di Giacomo AM, Taverna P, Natali PG, et al. Molecular Pathways: At the Crossroads of Cancer Epigenetics and Immunotherapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 sept 2015;21(18):4040-7.
  54. Liu Y, Komohara Y, Domenick N, Ohno M, Ikeura M, Hamilton RL, et al. Expression of antigen processing and presenting molecules in brain metastasis of breast cancer. *Cancer Immunol Immunother Cll.* juin 2012;61(6):789-801.

55. Qin A, Coffey DG, Warren EH, Ramnath N. Mechanisms of immune evasion and current status of checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Med.* juillet 2016;n/a-n/a.
56. Schoenhals JE, Seyedin SN, Anderson C, Brooks ED, Li YR, Younes AI, et al. Uncovering the immune tumor microenvironment in non-small cell lung cancer to understand response rates to checkpoint blockade and radiation. *Transl Lung Cancer Res.* avr 2017;6(2):148-58.
57. Gajewski TF, Schreiber H, Fu Y-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol.* oct 2013;14(10):1014-22.
58. Neurath MF, Finotto S. The emerging role of T cell cytokines in non-small cell lung cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* déc 2012;23(6):315-22.
59. Shigematsu Y, Hanagiri T, Shiota H, Kuroda K, Baba T, Ichiki Y, et al. Immunosuppressive effect of regulatory T lymphocytes in lung cancer, with special reference to their effects on the induction of autologous tumor-specific cytotoxic T lymphocytes. *Oncol Lett.* oct 2012;4(4):625-30.
60. Petersen RP, Campa MJ, Sperlazza J, Conlon D, Joshi M-B, Harpole DH, et al. Tumor infiltrating Foxp3+ regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients. *Cancer.* 15 déc 2006;107(12):2866-72.
61. Zhuang X, Xia X, Wang C, Gao F, Shan N, Zhang L, et al. A high number of CD8+ T cells infiltrated in NSCLC tissues is associated with a favorable prognosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM.* janv 2010;18(1):24-8.
62. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol.* mars 2002;196(3):254-65.
63. 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 Oxf Engl* 1990. avr 2006;42(6):717-27.
64. Katakai A, Scheid P, Piet M, Marie B, Martinet N, Martinet Y, et al. Tumor infiltrating lymphocytes and macrophages have a potential dual role in lung cancer by supporting both host-defense and tumor progression. *J Lab Clin Med.* nov 2002;140(5):320-8.
65. Korkolopoulou P, Kaklamanis L, Pezzella F, Harris AL, Gatter KC. Loss of antigen-presenting molecules (MHC class I and TAP-1) in lung cancer. *Br J Cancer.* janv 1996;73(2):148-53.
66. Derniame S, Vignaud J-M, Faure GC, Béné MC. Alteration of the immunological synapse in lung cancer: a microenvironmental approach. *Clin Exp Immunol.* oct 2008;154(1):48-55.
67. Garrido F, Perea F, Bernal M, Sánchez-Palencia A, Aptsiauri N, Ruiz-Cabello F. The Escape of Cancer from T Cell-Mediated Immune Surveillance: HLA Class I Loss and Tumor Tissue Architecture. *Vaccines.* 27 févr 2017;5(1):7.
68. Nagaraj S, Gupta K, Pisarev V, Kinarsky L, Sherman S, Kang L, et al. Altered recognition of antigen is a mechanism of CD8+ T cell tolerance in cancer. *Nat Med.* juill 2007;13(7):828-35.
69. Perea F, Bernal M, Sánchez-Palencia A, Carretero J, Torres C, Bayarri C, et al. The absence of HLA class I expression in non-small cell lung cancer correlates with the tumor tissue structure and the pattern of T cell infiltration. *Int J Cancer.* 15 févr 2017;140(4):888-99.

70. Bardhan K, Anagnostou T, Boussiotis VA. The PD1:PD-L1/2 Pathway from Discovery to Clinical Implementation. *Front Immunol* [Internet]. 12 déc 2016 [cité 7 mars 2017];7. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5149523/>
71. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. avr 2012;12(4):252-64.
72. Arasanz H, Gato-Cañas M, Zuazo M, Ibañez-Vea M, Breckpot K, Kochan G, et al. PD1 signal transduction pathways in T cells. *Oncotarget* [Internet]. 19 avr 2017 [cité 17 juin 2017];5(0). Disponible sur: <http://www.impactjournals.com/oncotarget/index.php?journal=oncotarget&page=article&op=view&path%5b%5d=17232>
73. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, Sharpe AH, Freeman GJ. Programmed Death-1 Ligand 1 Interacts Specifically with the B7-1 Costimulatory Molecule to Inhibit T Cell Responses. *Immunity*. juillet 2007;27(1):111-22.
74. 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*. 30 déc 2008;105(52):20852-7.
75. 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*. 28 mars 2012;4(127):127ra37.
76. Spranger S, Spaapen RM, Zha Y, Williams J, Meng Y, Ha TT, et al. Up-regulation of PD-L1, IDO, and T(regs) in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8(+) T cells. *Sci Transl Med*. 28 août 2013;5(200):200ra116.
77. He J, Hu Y, Hu M, Li B. Development of PD-1/PD-L1 Pathway in Tumor Immune Microenvironment and Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer. *Sci Rep*. 17 août 2015;5:srep13110.
78. Strauss L, Whiteside TL, Knights A, Bergmann C, Knuth A, Zippelius A. Selective Survival of Naturally Occurring Human CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Regulatory T Cells Cultured with Rapamycin. *J Immunol*. 1 janv 2007;178(1):320-9.
79. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev*. juill 2010;236:219-42.
80. Michalek RD, Gerriets VA, Jacobs SR, Macintyre AN, Maclver NJ, Mason EF, et al. Cutting edge: distinct glycolytic and lipid oxidative metabolic programs are essential for effector and regulatory CD4<sup>+</sup> T cell subsets. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 mars 2011;186(6):3299-303.
81. Rosa VD, Rella FD, Giacomo AD, Matarese G. Regulatory T cells as suppressors of anti-tumor immunity: Role of metabolism. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1 juin 2017;35:15-25.
82. Huber V, Camisaschi C, Berzi A, Ferro S, Lugini L, Triulzi T, et al. Cancer acidity: An ultimate frontier of tumor immune escape and a novel target of immunomodulation. *Semin Cancer Biol*. avr 2017;43:74-89.

## **7. ANNEXES**

### **Annexe 1 : Système immunitaire et cancérologie**

#### **I. Généralités**

##### **1. Néoantigènes et épigénétiques**

Le système immunitaire est une machinerie complexe ayant la capacité de différencier le « soi » du « non soi » grâce à une homéostasie encore imparfaitement comprise que l'on appelle l'immunosurveillance. La reconnaissance d'une cellule se fait par l'expression, à sa surface, d'antigènes propres. Les cellules tumorales expriment donc des néoantigènes non répertoriés comme appartenant au « soi ». Ces néoantigènes sont dépendants de la charge mutationnelles (51). Des modifications épigénétiques dans les cellules tumorales permettent aussi d'expliquer ces changements (52,53). Dans les cellules tumorales, des modifications dans la régulation de la transcription génique (histones, méthylation de l'ADN, chromatine ATP-dépendante), entraînent une altération de l'équilibre entre l'euchromatine et l'hétérochromatine. Ces altérations de la transcription de l'ADN entraînent une diminution des antigènes produits, une diminution de l'expression d'antigène à la surface des cellules, une diminution des composants indispensables à la reconnaissance des antigènes et une diminution des récepteurs apoptotiques. Des études retrouvent un lien entre ces mécanismes épigénétiques et une maladie d'évolution défavorable (54).

##### **2. La réponse innée**

Les cellules NK (CD56+) présentent, à leur surface, des récepteurs tels que le NKGD2 permettant la reconnaissance de ligands induits par le stress au niveau de la cellule tumorale. Elles permettent la destruction des cellules tumorales, par l'intermédiaire de récepteurs tels que FAS et TRAIL, par la libération de cytokines et par la libération de perforines. La libération d'antigènes dans le microenvironnement tumoral permet aux cellules dendritiques et aux macrophages de jouer leur rôle de cellules présentatrices d'antigènes.

### **3. La réponse adaptative**

#### ***a. Les populations lymphocytaires***

La réponse adaptative fait intervenir les lymphocytes T et B dont l'activation est médiée par le TCR. Les lymphocytes T CD4 naïfs sont activés en lymphocytes T régulateurs (Treg), en lymphocytes T helper (Thelp) ou effecteurs, en lymphocytes T folliculaires (Tfoll). On distingue deux types de lymphocytes Treg, exprimant Foxp3: les lymphocytes Treg naturel (nTreg) se développant dans les organes lymphoïdes et les lymphocytes Treg induits (iTreg) se développant en périphérie. Les lymphocytes T CD8 naïfs sont activés en lymphocytes T cytotoxiques (LTC). Les cellules T folliculaires ont pour fonction d'induire la différenciation des lymphocytes B en cellules sécrétrices d'anticorps. Les lymphocytes Treg sont une population très présente dans le microenvironnement tumoral, et ont la capacité d'inhiber la réponse des LTC. Ils interviennent donc dans l'immunomodulation. Les lymphocytes Thelp permettent de majorer une réponse immunitaire, localement par la sécrétion de cytokines ou par l'expression d'IFN-gamma et donc de majorer l'activation des lymphocytes T CD8.

#### ***b. La synapse immunologique :***

Les lymphocytes T sont activés par la reconnaissance, grâce au TCR, d'un antigène présenté par les CMH de classe II des cellules présentatrices d'antigènes ou par le CMH de classe I des cellules tumorales. C'est le concept de synapse immunologique. Cette reconnaissance est classiquement divisée en plusieurs signaux. Le premier signal correspond à l'activation du TCR et de son corécepteur CD3 par le CMH. Le deuxième signal permet une modulation de ce premier signal par ce que l'on appellera des cosignaux activateurs ou inhibiteurs. Ces cosignaux modulent l'activation du lymphocyte. Des cosignaux sont nécessaires pour l'activation ou l'inhibition des voies intracellulaires. Parmi ces cosignaux inhibiteurs, on retrouve la voie PD1/PDL-1 et CD80/CTLA-4. Le troisième signal correspond à la libération de cytokines permettant une modulation complémentaire.

## **II. Mécanismes de l'échappement tumoral**

Les mécanismes de l'échappement tumoral interviennent à différents niveaux :

- au niveau épigénétique sur la production de néoantigènes, sur l'expression de ces néoantigènes au niveau de la synapse immunologique, sur l'expression de cosignaux inhibiteurs, sur la régulation du CMH,
- au niveau du microenvironnement tumoral par la production de cytokines, de chemokines, de facteurs de croissance,
- au niveau de la réponse immunitaire effectrice,
- au niveau de la réponse immunitaire primaire.

L'ensemble de ces mécanismes ne peut pas être décrit, chacun d'entre eux étant actuellement l'objet de recherches et d'une littérature propre et vaste. On se contentera de résumer à partir de synthèses antérieures les mécanismes principaux de l'échappement tumoral au niveau immunologique.

### **1. Les cellules myéloïdes**

Dès la phase précoce, les cellules tumorales inhibent la réponse innée des cellules présentatrices d'antigènes avec notamment la libération dans le microenvironnement tumoral de cytokines et de facteurs de croissance (IL10 et TGF beta) modifiant la fonction des macrophages (55). Beaucoup d'études ont évalué le rôle des macrophages dans l'environnement tumoral. Certaines études ont montré que la présence de macrophages orientés M1 dans le microenvironnement tumoral était corrélée à une meilleure survie comparativement aux macrophages orientés M2. D'autres études ont émis l'hypothèse que les macrophages orientés M1 perdaient leur capacité de phagocytose et que leur activation, par le TNF-alpha, l'IL6 et l'IL 1, participait à l'échappement tumoral. Enfin les cellules myéloïdes suppressives (MSDC) font l'objet de recherche. Leur présence dans le microenvironnement tumoral semble corrélé à une mauvaise survie et à l'absence de lymphocytes TCD8 (56).

### **2. Les populations lymphocytaires T**

En fonction de l'empreinte cellulaire et moléculaire de l'environnement, on a proposé la distinction suivante en fonction des microenvironnements tumoraux (57):

- un environnement inflammatoire qui échappe activement au système immunitaire. Pour rappel, la présence de lymphocytes Thelp permet l'amplification de la réponse LTC par l'IFN-gamma et le TNF. La production par la tumeur de cytokines, telles que IL10 et de



chemokines, telles que CCL20 ou TGF-beta, permet en revanche la prolifération des lymphocytes Treg, des lymphocytes Treg FOXP3+ et la maturation des lymphocytes Treg en lymphocytes CD25+FOXP3+ qui inhibent la réponse LTC (58,59) et favorisent une inhibition de la réponse immunitaire. Des études ont montré que la déplétion en lymphocytes Treg FOXP3+ était significativement associée à une diminution de la masse tumorale. L'infiltration des lymphocytes Treg FOXP3+ était associée au risque de rechute (60). Enfin L'infiltration par les lymphocytes T CD8 était associée à une augmentation de la survie (61).

- Les environnements peu inflammatoires, qui passivement échappent au système immunitaire, sont caractérisés par une faible infiltration lymphocytaire d'étiologie inconnue. Des études ont montré le rôle important des macrophages et cellules NK dans la limitation de cette inflammation. Les macrophages associés aux tumeurs présentant des phénotypes bien particuliers (phénotype M2) (62,63), semblables aux macrophages présents dans les tissus en voie de cicatrisation, permettent la progression tumorale par la sécrétion de facteurs de croissance (64).

### **3. Modulation de l'expression de CMH**

Par ailleurs, des études ont montré une diminution du CMH de classe I sur les cellules tumorales (65–67). Nagaraja et al (68) retrouve, sur des modèles animaux, une dysfonction des TCR et des LTC. La reconnaissance des CMH était probablement altérée.

L'étude de Perea et al (69) retrouve deux types de microenvironnement tumoraux. Un premier où les cellules tumorales expriment le CMH avec une infiltration de lymphocytes TCD8 intra et péri-tumoraux et une présence modérée des fibroblastes associés aux tumeurs (FAP+) et des macrophages de type M2. Le deuxième microenvironnement tumoral correspond à une faible expression de CMH de classe I, avec une infiltration LTC péri-tumoral et une prédominance de macrophages M2 et de fibroblastes. Il fait l'hypothèse d'un processus dynamique entre ces deux microenvironnements tumoraux. Le premier immunogène dont l'efficacité de la réponse immunitaire diminue avec la disparition du CMH. L'expression initiale du CMH classe I entraîne une réponse des LTC entraînant une sélection par le système immunitaire de cellules tumorales n'exprimant pas de CMH.

#### **4. La surexpression de cosignaux inhibiteurs**

De plus, la surexpression de protéines transmembranaires à la surface des cellules tumorales permet un échappement de ces dernières par une inhibition de la réponse immunitaire, lors de la reconnaissance du CMH par le TCR des lymphocytes (66). Parmi ces protéines on retrouve le PD-L1.

#### **Annexe 2 : La voie PD-1/PD-L1**

##### **I. Structures de PD-1**

Le PD-1 est une protéine transmembranaire, plus précisément un cluster de différenciation. Ce cluster, numéroté 279, est codé par le gène PDCD 1 présent sur le chromosome 2. Il fait partie de la famille des B7. Il se compose de trois domaines :

- un domaine extracellulaire comportant un domaine N-terminal IgV unique,
- un domaine transmembranaire,
- un domaine intracytoplasmique comportant une séquence N-terminal formant un immunorécepteur avec un motif tyrosine inhibiteur (ITIM) permettant le recrutement d'un domaine SH2 et une séquence C-TERMINAL formant un immunorécepteur avec un motif tyrosine switch (ITSM) (70–72).

##### **II. Expressions et distributions**

###### **1. De PD-1**

Il est présent à la surface des cellules immunitaires : lymphocytes T CD4 et CD8, sur les cellules B, les monocytes, les cellules natural killer (NK) et les cellules dendritiques. Il peut être induit à la surface des cellules présentatrices d'antigènes, des monocytes et des cellules myéloïdes. L'expression de PD-1 sur les cellules T peut être induite par des interleukines : IL2, IL7, IL15 et IL 21. Il faut noter que ce cluster est aussi présent sur les thymocytes doubles négatifs, suggérant un rôle dans la sélection des lymphocytes lors du réarrangement du TCR-beta. Enfin le NFATc1 qui est un facteur de transcription pour le passage du lymphocyte T naïf au lymphocyte T activé, induit l'expression de PD-1 (70–72).

## **2. Des ligands : PD-L1, PDL-2**

Le ligand de PD-1 le PD-L1 est exprimé sur les lymphocytes T et B, les cellules dendritiques, les macrophages, les cellules souches mésenchymateuses et les mastocytes de la moelle osseuse. Par ailleurs on le retrouve sur des cellules non hématopoïétiques dans les poumons, les endothéliums vasculaires, les astrocytes et les îlots pancréatiques. Il est exprimé de façon constitutive dans la cornée et sur la rétine. L'expression est induite par les interleukines : IL2, IL7 et IL15, par IL21 au niveau des lymphocytes B et par IL10 au niveau des macrophages. L'IFN-gamma induit l'expression de PD-L1 sur les cellules non lymphoïdes.

Un autre ligand le PD-L2, qui partage 40% de sa séquence d'acide aminé avec PD-L1, est présent uniquement sur les cellules dendritiques, les macrophages, les mastocytes de la moelle osseuse et sur 50% des lymphocytes B1 au niveau péritonéal (IgM). Dans le thymus, PD-L1 est exprimé au niveau du cortex, alors que PD-L2 est exprimé au niveau de la médulla. On notera que l'interleukine IL4 et le GM-CSF stimulent l'expression de PD-L2 au niveau des cellules dendritiques(70–72).

Enfin il faut signaler que le B7-1 ou CD80 se lie de façon préférencielle au PD-L1 (voie inhibitrice) comparativement au CD28 (voie activatrice) à la surface des lymphocytes T (73).

## **3. PD-L1 à la surface des cellules tumorales**

A la surface des cellules tumorales, le PD-L1 peut être exprimé de façon constitutionnelle notamment par des voies de signalisation oncogénique telles que PI3K/AKT, Erk/MaPK, ALK/STAT3, JAK2/STAT (20,74,75). Un deuxième mécanisme a été décrit la résistance adaptative au système immunitaire. L'interféron gamma a été identifié comme favorisant l'expression de PD-L1 à la surface des cellules tumorales (71,75,76).

### **III. Les voies de signalisation intracellulaire**

Les motifs ITIM et ITSM du PD-1 recrutent par phosphorylation SHP1 et SHP2 qui déphosphorylent les voies de signalisation activatrice du TCR et de CD28. Il semble que le motif ITSM soit le principal effecteur de cette voie. Son action inhibe les voies activatrices du TCR par les voies de signalisation PI3K/Akt et Ras/MEK/Erk. Il en résulte notamment une augmentation du taux de p27kip1, une inhibition de Cdk2 et une augmentation de smad3. Ces protéines sont impliquées dans l'initiation du cycle cellulaire (70,72).

#### **IV. Caractéristiques biologiques de la voie PD-1/PD-L1**

Contrairement à la voie CTLA4 qui intervient dans le priming, c'est-à-dire l'initiation de la réponse immunitaire, la voie PD-1 intervient dans la réponse effectrice dans les tissus périphériques. Le signal médié par PD-1 inhibe la production de cytokine du lymphocyte T. La consommation de glucose, sa prolifération et sa survie permettent de limiter les dommages lors d'une réaction immunitaire ou d'éviter des lésions auto-immunes (73).

##### **1. Modifications du cycle cellulaire et apoptose**

Le lymphocyte primaire réside en phase G0 du cycle cellulaire et nécessite des kinases tels que les Cdk pour son activation. P27kip1 est un inhibiteur de ces kinases. L'activation des deux voies PI3K/Akt et Ras/MEK/ERK en aval du TCR est indispensable au recrutement d'ubiquitine ligase pour la dégradation de p27kip1 et par conséquent à l'activation du cycle cellulaire par les Cdk (70,77). Le lymphocyte T CD8 dont le cosignal PD-1 est activé par le PD-L1 entre en apoptose par l'inhibition de la voie PI3K (77).

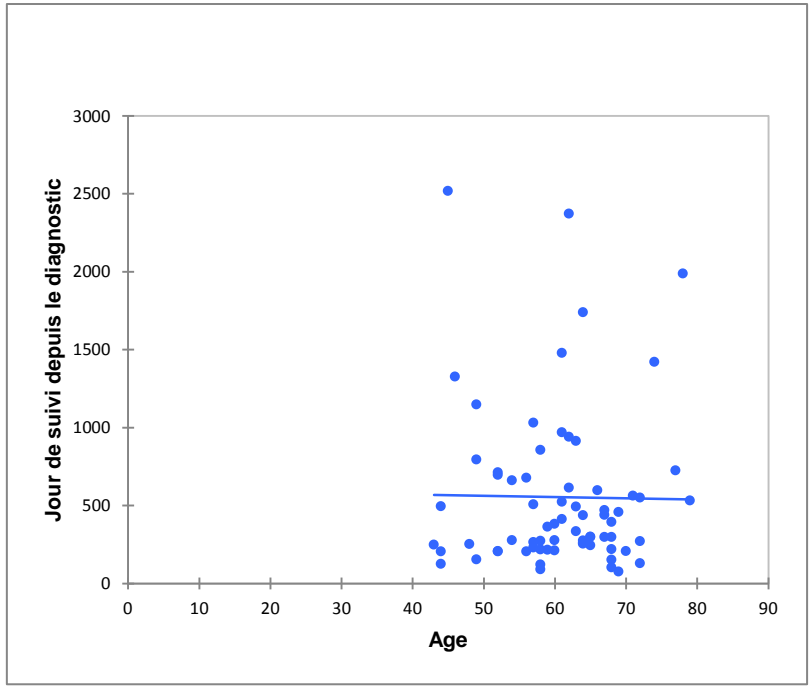
##### **2. Modification de la fonction des lymphocytes T**

L'activation de la voie PD-1/PD-L1 modifie les facteurs transcriptionnels Cdk2 et Smad 3 permettant le passage du lymphocyte T CD4 naïf en Lymphocyte iTreg. Les iTreg favorisent l'immunotolérance (78,79). L'activation de la voie PD-1 diminue la réponse immunitaire sur le long terme par l'inhibition du passage des lymphocytes T CD8 effecteurs en lymphocytes T CD8 mémoires (77). Si l'expression de PD-1 par les lymphocytes est nécessaire à leur activation, il semble qu'avec le temps il soit un facteur majeur d'épuisement voir d'anergie du lymphocyte T (36).

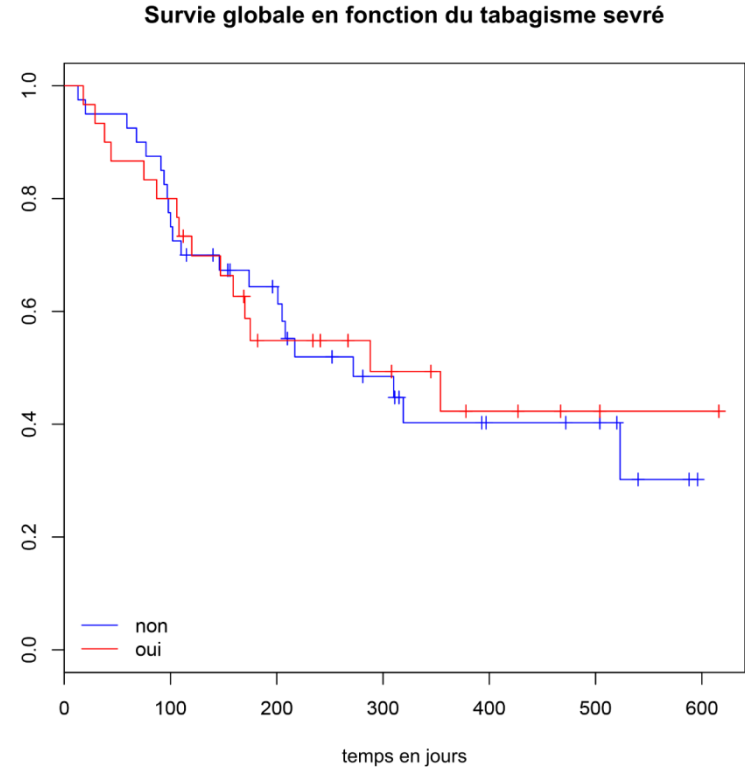
##### **3. Modification du métabolisme du lymphocyte T**

Par ailleurs, il semble que l'activation de la voie PD-1 modifie le métabolisme du lymphocyte qui passe d'un métabolisme de glycolyse à un métabolisme de bêtaoxydation d'acide gras. Un métabolisme de glycolyse va de paire avec la différenciation en cellule T helper. Un métabolisme par bêtaoxydation d'acide gras semble favoriser, in vitro, la différenciation des lymphocytes T CD4 en lymphocytes Treg (70,80,81). La récente revue de la littérature de Huber et al synthétise l'état de la recherche sur l'effet de la baisse du pH

dans le microenvironnement tumoral entraînant une dysfonction globale de l'ensemble des acteurs de la réponse immunitaire (82).

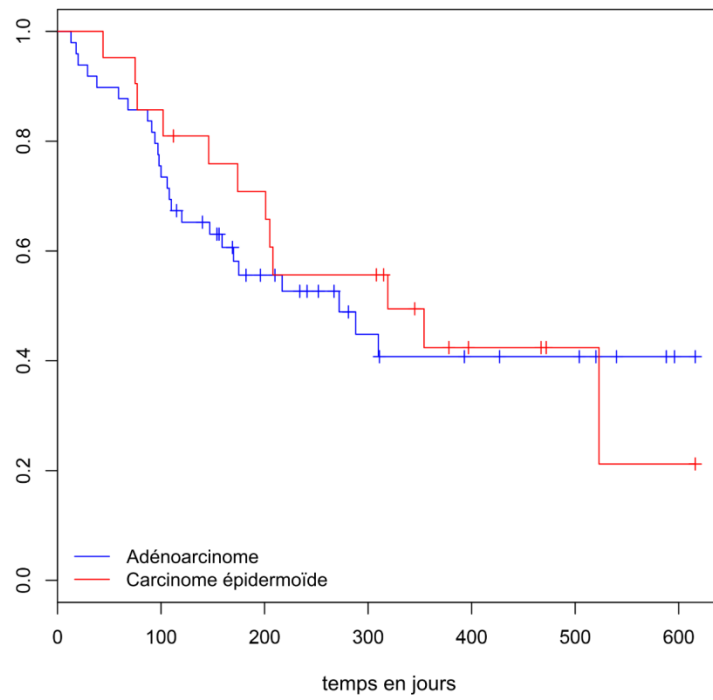


**Annexe 3 : Nombre de jours de suivi en fonction de l'âge**



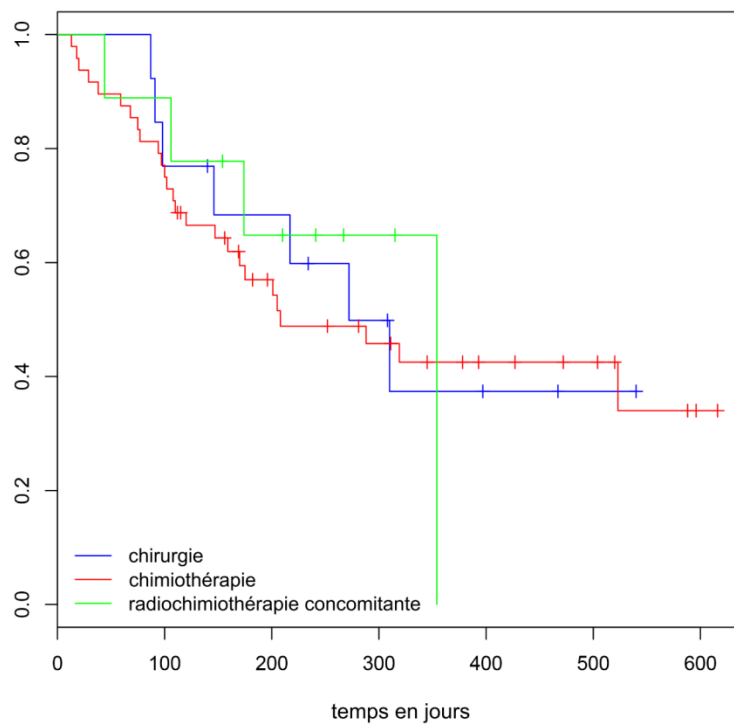
**Annexe 4 : Survie globale en fonction du statut tabagisme sevré**

**Survie globale en fonction de l'histologie**



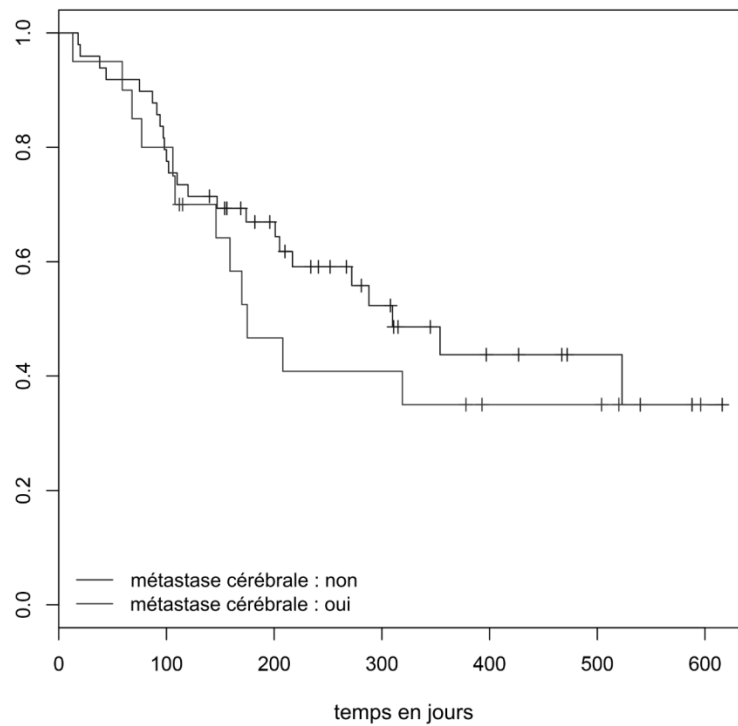
**Annexe 5 : Survie globale en fonction du type histologique**

**Survie globale en fonction des traitements antérieurs**

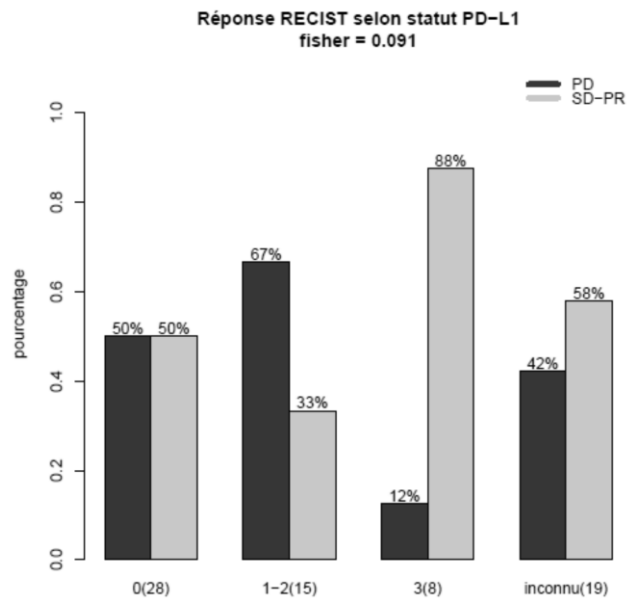


**Annexe 6 : Survie globale en fonction des traitements antérieurs à l'administration du nivolumab**

### Survie globale



### Annexe 7 : Survie globale en fonction de la présence de métastase cérébrale



### Annexe 8 : Meilleure réponse selon RECIST regroupée en deux catégories progression versus maladie stable ou réponse partielle ou réponse complète en fonction du statut PD-L1



	meilleure réponse selon RECIST	Effectif par modalité	Fréquence par modalité (%)	Borne inf. des freq. (95%)	Borne sup. des freq. (95%)
Statut PD-L1 $\geq$ 50% non	progression	24	55,8	40,9	70,6
	stable	11	25,6	12,5	38,6
	partielle/complète	8	18,6	6,9	30,2
Statut PD-L1 $\geq$ 50% oui	progression	1	12,5	0	35,4
	stable	2	25,0	0	55,0
	partielle/complète	5	62,5	28,9	96,0

Test exact de fisher p = 0.016

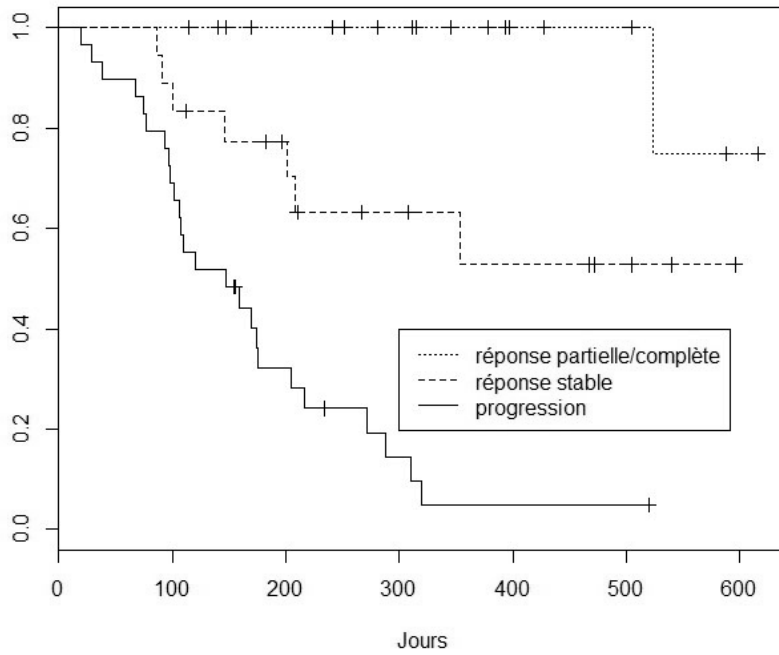
**Annexe 9 : Taux des meilleurs réponses selon RECIST des patients présentant un statut PD-L1 sur les cellules tumorales  $\geq$  50%**

	Réponse partielle ou complète	Effectif par modalité	Fréquence par modalité (%)	Borne inf. des freq. (95%)	Borne sup. des freq. (95%)
statut PD-L1 < 50% sur les cellules tumorales	non	35	81.4	69.7	93.0
	oui	3	18.6	6.9	30.2
statut PD-L1 $\geq$ 50% sur les cellules tumorales	non	8	37.5	3.9	71.0
	oui	5	62.5	28.9	96.0

Test de fisher = 0.019

**Annexe 10 : Taux de réponse partielle/complète selon RECIST (des patients présentant un statut PD-L1 sur les cellules tumorales  $\geq$  50%)**

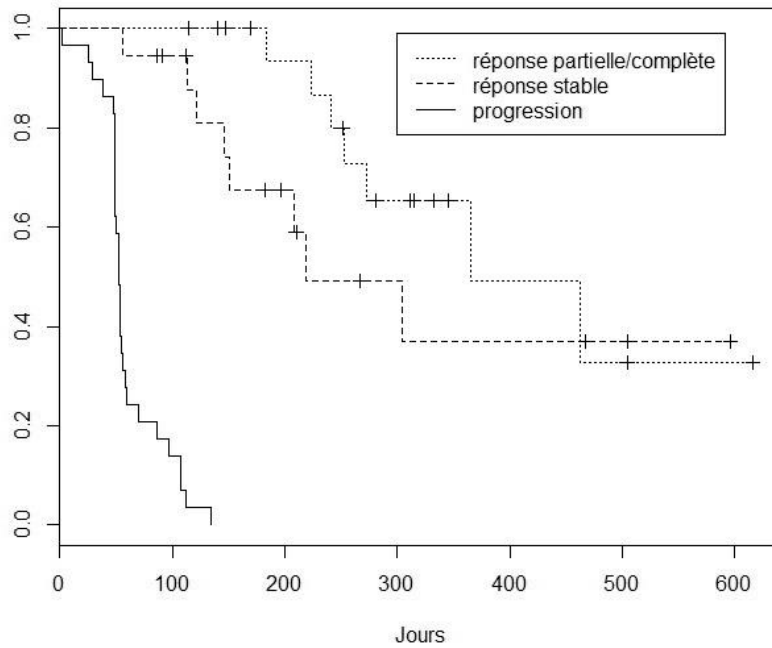
**Survie globale en fonction de la meilleure réponse selon RECIST**



Log-rank  $p = 7.16e-09$

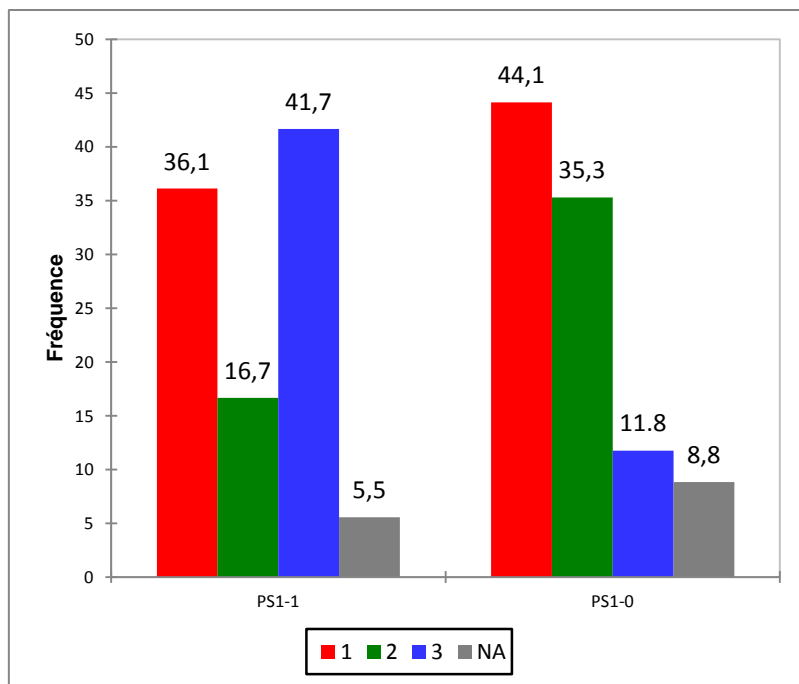
**Annexe 11 : Survie globale en fonction de la meilleure réponse selon RECIST**

**Survie sans progression en fonction de la meilleure réponse selon RECIST**



Log-rank  $p < 0.05$

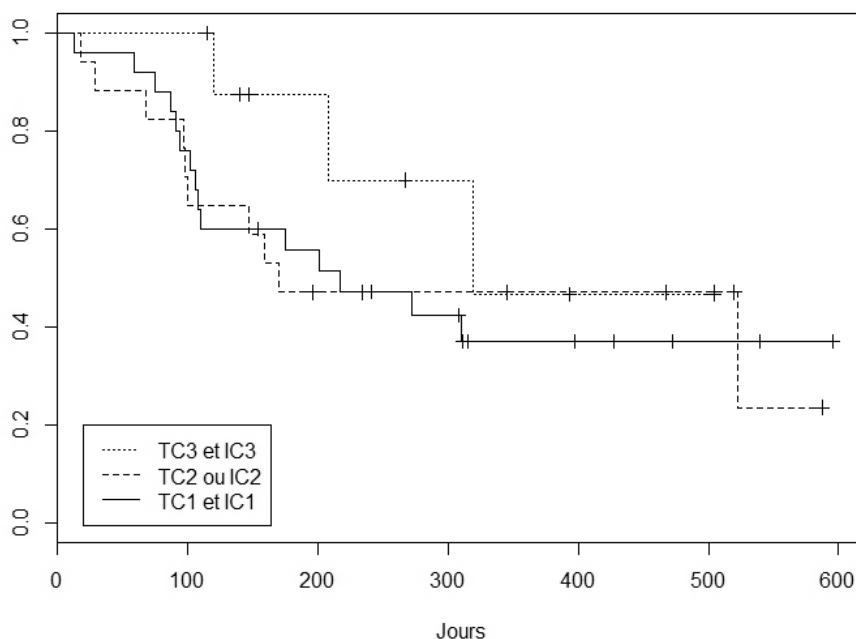
**Annexe 12 : Survie sans progression en fonction de la meilleure réponse selon RECIST**



PS1-1 : Patients PS1 ; PS1-0 : Patients PS  $\geq$  2

### Annexe 13 : Taux des meilleures réponses selon RECIST en fonction du Performance status

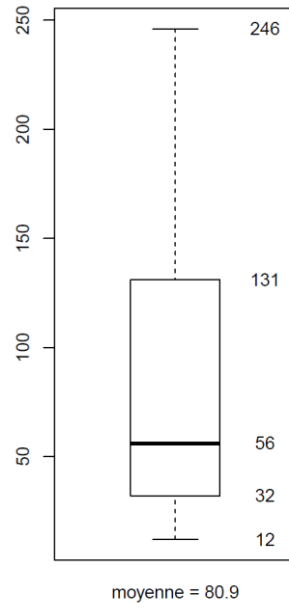
#### Survie globale en fonction du statut PD-L1 sur les cellules tumorales et immunitaires



Log-Rank p=0.5

sur les cellules tumorales un statut PD-L1  $\geq$  50 % (TC3) et sur les cellules immunitaires un statut PD-L1  $\geq$ 10% (IC3)  
 sur les cellules tumorales un statut PD-L1  $\geq$  1% et < 50 % (TC2) ou sur les cellules immunitaires un statut PD-L1  $\geq$  1% et  
 <10% (IC2)  
 sur les cellules tumorales un statut PD-L1 < 1 % (TC0) et sur les cellules immunitaires un statut PD-L1 < 1% (IC0)

### Annexe 14 : Survie globale en fonction du statut PD-L1 sur les cellules tumorales et immunitaires



(n=37)

**Annexe 15 : Délai entre la dernière injection et décès**



## Serment d'Hippocrate

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσιν κατὰ δύνάμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ζυγγραφὴν τήνδε. Ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ζυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσι τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισι τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρῆσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύνάμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξω. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενί αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑφηγήσομαι ζυμβουλίην τοιήνδε. Ὅμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἀγνῶς δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίας, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικεῖων σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπείης κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρὴ ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὅρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ζυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιορκοῦντι, τάναντία τουτέων.

Texte grec ed. E. Littré, *Oeuvres complètes d'Hippocrate*, vol. 4 (Baillière, Paris 1844), p. 628-632.

Je jure par Apollon médecin, par Asclépios, par Hygie et Panacée, par tous les dieux et toutes les déesses, les prenant à témoin, de remplir, selon ma capacité et mon jugement, ce serment et ce contrat; de considérer d'abord mon maître en cet art à l'égal de mes propres parents; de mettre à sa disposition des subsides et, s'il est dans le besoin, de lui transmettre une part de mes biens; de considérer sa descendance à l'égal de mes frères, et de leur enseigner cet art, s'ils désirent l'apprendre, sans salaire ni contrat; de transmettre, les préceptes, des leçons orales et le reste de l'enseignement à mes fils, à ceux de mon maître, et aux disciples liés par un contrat et un serment, suivant la loi médicale, mais à nul autre. J'utiliserai le régime pour l'utilité des malades, suivant mon pouvoir et mon jugement; mais si c'est pour leur perte ou pour une injustice à leur égard, je jure d'y faire obstacle. Je ne remettrai à personne une drogue mortelle si on me la demande, ni ne prendrai l'initiative d'une telle suggestion. De même, je ne remettrai pas non plus à une femme un pessaire abortif. C'est dans la pureté et la piété que je passerai ma vie et exercerai mon art. Je n'inciserai pas non plus les malades atteints de lithiase, mais je laisserai cela aux hommes spécialistes de cette intervention. Dans toutes les maisons où je dois entrer, je pénétrerai pour l'utilité des malades, me tenant à l'écart de toute injustice volontaire, de tout acte corrupteur en général, et en particulier des relations amoureuses avec les femmes ou les hommes, libres ou esclaves. Tout ce que je verrai ou entendrai au cours du traitement, ou même en dehors du traitement, concernant la vie des gens, si cela ne doit jamais être répété au-dehors, je le tairai, considérant que de telles choses sont secrètes.

Eh bien donc, si j'exécute ce serment et ne l'enfreins pas, qu'il me soit donné de jouir de ma vie et de mon art, honoré de tous les hommes pour l'éternité. En revanche, si je le viole et que je me parjure, que ce soit le contraire.

Traduction J. Jouanna, *Hippocrate*, Paris, Librairie Arthème Fayard, 1992, annexe I. (*Portrait d'Hippocrate de Cos, Paris - Bibliothèque nationale, manuscrit grec 2144, f° 10 v°, XIV<sup>e</sup> siècle*)

### **Résumé :**

La valeur prédictive de bonne réponse aux immunothérapies du statut PD-L1 est variable en fonction des études et des clones. L'objectif est d'évaluer la survie globale et le taux de réponse des patients présentant un cancer bronchique non à petite cellule (CBNPC) métastatiques traités par nivolumab en deuxième ligne ou plus en fonction du statut PD-L1 réalisé à l'aide du clone E1L3N.

70 patients ayant bénéficié de nivolumab en deuxième ligne ou plus sont inclus rétrospectivement. Le pourcentage de cellules tumorales exprimant le PD-L1 avec le clone E1L3N est réparti en trois classes : TC1 : statut PD-L1 <1%, TC2 : 1% ≤ statut PD-L1 ≤ 50% et TC3 : statut PD-L1 ≥ 50%. Le performance status (PS) le plus bas est relevé dans les trois mois précédant le début du traitement.

Le statut PD-L1 n'est pas réalisable pour 27.1% des patients, 40% des prélèvements sont TC1, 21.5% sont TC2, 11.4% sont TC3. Il n'y a pas de différence entre les médianes de survie globale en fonction du statut PD-L1 avec un p=0.46. Le taux de réponse partielle (RP) est de 62.5% dans le groupe TC3, 13.3% dans le groupe TC2, 21.4% dans le groupe TC1 et 31.6% dans le groupe TC inconnu. Le taux de RP est significativement supérieur dans le groupe statut PD-L1 ≥ 50% soit 62.5% IC95% [29-96] comparativement au groupe de patient avec un statut PD-L1 < 50% soit 18.6% IC95% [7-30] avec un p=0.019. Les patients avec un PS égal à 1 ont une survie à 523 jours IC95% [319 – NA] significativement supérieure à la survie des patients avec un PS supérieur ou égal à 2 avec 208 jours IC95% [108-NA] et un p=0.038. Deux variables sont significativement associées aux taux de RP en analyse univariée: le PS égale à 1 avec un OR à 16.5 IC95% [1.9-140] et le statut PD-L1 ≥ 50% avec un OR à 7.3 IC95% [1.4-37.0]

Il existe une corrélation significative entre le taux de réponse partielle et le PS, et l'expression de PD-L1 sur plus de 50% de cellules tumorales, réalisé avec le clone E1L3N.

---

### **Summary :**

The predictive value of PD-L1 status to immunotherapy response is still unclear. We evaluate overall survival and overall response rate in non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab in second line or more.

70 patients treated with nivolumab in second line or more are retrospectively included. E1L3N clone is used to evaluate the percentage of PD-L1 expression on tumoral cell. Three groups are made : TC1: PD-L1 status < 1%, TC2: 1% ≤ status PD-L1 < 50%, TC3: PD-L1 status ≥ 50%. Lowest performance status (PS) during the three month before treatment is recorded.

PD-L1 status is not assessable for 27.1 % of patients, 40% of samples are TC1, 21.5% are TC2, 11.4% are TC3. The median overall survival is not different in TC groups, p=0.46. The response rate is 62.5% in TC3, 13.3% in TC2, 21.4% in TC1 and 31.6% in unknown TC. The response rate is higher in PD-L1 status ≥ 50% group with 62.5% IC95% [29-96] than in PD-L1 status < 50% group with 18.6% IC95% [7-30] and p=0.019. The median overall survival in PS=1 group is 523 days IC95% [319 – NA] and 208 days IC95% [108-NA] in PS ≥ 2 group with a significant p=0.038. In univariate analysis two variables are significantly associated with response rate: PS equal to one with an OR 16.5 IC95% [1.9-140] and PD-L1 status ≥ 50% with an OR 7.3 IC95% [1.4-37.0].

Low performance status and PD-L1 status higher than 50% with E1L3N clone are significantly associated with response rate.

---

**Mots clés :** Cancer du poumon – nivolumab – clone E1L3N – performance status – survie globale – taux de réponse

---

**Intitulé et adresse de l'UFR ou du laboratoire :** UFR des sciences médicales, Université Bordeaux Segalen