



**HAL**  
open science

# Évaluation des organes lymphoïdes au TEP-TDM 18 F-FDG durant le traitement par inhibiteurs de checkpoints immunitaires chez des patients atteints d'un mélanome stade III inopérable ou IV

Émilien Ezine

► **To cite this version:**

Émilien Ezine. Évaluation des organes lymphoïdes au TEP-TDM 18 F-FDG durant le traitement par inhibiteurs de checkpoints immunitaires chez des patients atteints d'un mélanome stade III inopérable ou IV. Médecine humaine et pathologie. 2021. dumas-03324283

**HAL Id: dumas-03324283**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03324283v1>**

Submitted on 23 Aug 2021

**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 de CAEN NORMANDIE**

-----  
**UFR SANTÉ**

**FACULTÉ de MÉDECINE**

Année 2020/2021

**THÈSE POUR L'OBTENTION**  
**DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

Présentée et soutenue publiquement le :

**19 janvier 2021**

par

**Mr EZINE Emilien**

Né le 10/02/1991 à Nogent-sur-Marne (94)

**TITRE DE LA THÈSE :**

« Evaluation des organes lymphoïdes au TEP-TDM <sup>18</sup>F-FDG durant le traitement par inhibiteurs de checkpoints immunitaires chez des patients atteints d'un mélanome stade III inopérable ou IV. »

**Présidente :** **Madame le Professeur DOMPMARTIN Anne**

**Membres :** Monsieur le Professeur ALEXANDRE Joachim

Monsieur le Dr DE PONTVILLE Michel

Madame le Dr FAVEYRIAL Audrey

**Directeur de thèse :**

**Pr AIDE Nicolas**

**Année Universitaire 2020/2021****Doyen**

Professeur Emmanuel TOUZÉ

**Assesseurs**

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3<sup>ème</sup> cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

<b>M. AGOSTINI Denis</b>	Biophysique et médecine nucléaire
<b>M. AIDE Nicolas</b>	Biophysique et médecine nucléaire
<b>M. ALEXANDRE Joachim</b>	Pharmacologie clinique
<b>M. ALLOUCHE Stéphane</b>	Biochimie et biologie moléculaire
<b>M. ALVES Arnaud</b>	Chirurgie digestive
<b>M. AOUBA Achille</b>	Médecine interne
<b>M. BABIN Emmanuel</b>	Oto-Rhino-Laryngologie
<b>M. BÉNATEAU Hervé</b>	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
<b>M. BENOIST Guillaume</b>	Gynécologie - Obstétrique
<b>M. BERGER Ludovic</b>	Chirurgie vasculaire
<b>M. BERGOT Emmanuel</b>	Pneumologie
<b>M. BIBEAU Frédéric</b>	Anatomie et cytologie pathologique
<b>Mme BRAZO Perrine</b>	Psychiatrie d'adultes
<b>M. BROUARD Jacques</b>	Pédiatrie
<b>M. BUI Thanh-huy Eric</b>	Psychiatrie d'adultes
<b>M. BUSTANY Pierre</b>	Pharmacologie
<b>Mme CHAPON Françoise</b>	Histologie, Embryologie
<b>Mme CLIN-GODARD Bénédicte</b>	Médecine et santé au travail
<b>M. DAMAJ Ghandi Laurent</b>	Hématologie
<b>M. DAO Manh Thông</b>	Hépatologie-Gastro-Entérologie
<b>M. DAMAJ Ghandi Laurent</b>	Hématologie

<b>M. DEFER Gilles</b>	Neurologie
<b>M. DELAMILLIEURE Pascal</b>	Psychiatrie d'adultes
<b>M. DENISE Pierre</b>	Physiologie
<b>Mme DOLLFUS Sonia</b>	Psychiatrie d'adultes
<b>Mme DOMPMARTIN-BLANCHÈRE Anne</b>	Dermatologie
<b>M. DREYFUS Michel</b>	Gynécologie - Obstétrique
<b>M. DU CHEYRON Damien</b>	Réanimation médicale
<b>Mme ÉMERY Evelyne</b>	Neurochirurgie
<b>M. ESMAIL-BEYGUI Farzin</b>	Cardiologie
<b>Mme FAUVET Raffaèle</b>	Gynécologie – Obstétrique
<b>M. FISCHER Marc-Olivier</b>	Anesthésiologie et réanimation
<b>M. GÉRARD Jean-Louis</b>	Anesthésiologie et réanimation
<b>M. GUÉNOLÉ Fabian</b>	Pédopsychiatrie
<b>Mme GUITTET-BAUD Lydia</b> santé et prévention	Epidémiologie, économie de la
<b>M. HAMON Martial</b>	Cardiologie
<b>Mme HAMON Michèle</b>	Radiologie et imagerie médicale
<b>M. HANOUIZ Jean-Luc</b> péri-opératoire	Anesthésie et réa. médecine
<b>M. HITIER Martin</b> Cervico-faciale	Anatomie –ORL Chirurgie
<b>M. HULET Christophe</b> traumatologique	Chirurgie orthopédique et
<b>M. ICARD Philippe</b> vasculaire	Chirurgie thoracique et cardio-
<b>M. JOIN-LAMBERT Olivier</b>	Bactériologie - Virologie
<b>Mme JOLY-LOBBEDEZ Florence</b>	Cancérologie
<b>M. JOUBERT Michael</b>	Endocrinologie
<b>M. LAUNOY Guy</b> santé et prévention	Epidémiologie, économie de la
<b>M. LE HELLO Simon</b>	Bactériologie-Virologie
<b>Mme LE MAUFF Brigitte</b>	Immunologie
<b>M. LOBBEDEZ Thierry</b>	Néphrologie
<b>M. LUBRANO Jean</b>	Chirurgie viscérale et digestive
<b>M. MAHE Marc-André</b>	Cancérologie
<b>M. MANRIQUE Alain</b>	Biophysique et médecine

nucléaire

M. MARCÉLLI Christian	Rhumatologie
M. MARTINAUD Olivier	Neurologie
M. MAUREL Jean	Chirurgie générale
M. MILLIEZ Paul	Cardiologie
M. MOREAU Sylvain	Anatomie/Oto-Rhino-Laryngologie
M. MOUTEL Grégoire	Médecine légale et droit de la santé

M. NORMAND Hervé

Physiologie

M. PARIENTI Jean-Jacques

Biostatistiques, info. médicale et tech. de

communication

M. PELAGE Jean-Pierre

Radiologie et imagerie médicale

Mme PIQUET Marie-Astrid

Nutrition

M. QUINTYN Jean-Claude

Ophtalmologie

Mme RAT Anne-Christine

Rhumatologie

M. REPESSE Yohann

Hématologie

M. REZNIK Yves

Endocrinologie

M. ROD Julien

Chirurgie infantile

M. ROUPIE Eric

Médecine d'urgence

Mme THARIAT Juliette

Radiothérapie

M. TILLOU Xavier

Urologie

M. TOUZÉ Emmanuel

Neurologie

Mme VABRET Astrid

Bactériologie - Virologie

M. VERDON Renaud

Maladies infectieuses

Mme VERNEUIL Laurence

Dermatologie

M. VIVIEN Denis

Biologie cellulaire

### **PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS**

Mme BELLOT Anne

Pédiatrie

M. DE LA SAYETTE Vincent

Neurologie

M. GUILLAUME Cyril

Médecine palliative

M. LE BAS François

Médecine Générale

M. SABATIER Rémi

Cardiologie

### **PRCE**

Mme LELEU Solveig

Anglais

### **PROFESSEURS ÉMÉRITES**

<b>M. DERLON Jean-Michel</b>	Neurochirurgie
<b>M. GUILLOIS Bernard</b>	Pédiatrie
<b>M. HABRAND Jean-Louis</b>	Cancérologie option
Radiothérapie	
<b>M. HURALT de LIGNY Bruno</b>	Néphrologie
<b>Mme KOTTLER Marie-Laure</b>	Biochimie et biologie moléculaire
<b>M. LE COUTOUR Xavier</b>	Epidémiologie, économie de la
santé et prévention	
<b>M. LEPORRIER Michel</b>	Hématologie
<b>M. RAVASSE Philippe</b>	Chirurgie infantile
<b>M. TROUSSARD Xavier</b>	Hématologie
<b>M. VIADER Fausto</b>	Neurologie

**Année Universitaire 2020/2021****Doyen**

Professeur Emmanuel TOUZÉ

**Assesseurs**

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3<sup>ème</sup> cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS  
HOSPITALIERS**

<b>Mme BENHAÏM Annie</b>	Biologie cellulaire
<b>M. BESNARD Stéphane</b>	Physiologie
<b>Mme BONHOMME Julie</b>	Parasitologie et mycologie
<b>M. BOUVIER Nicolas</b>	Néphrologie
<b>M. BROSSIER David</b>	Pédiatrie
<b>M. COULBAULT Laurent</b> moléculaire	Biochimie et Biologie
<b>M. CREVEUIL Christian</b> communication	Biostatistiques, info. médicale et tech. de
<b>M. DE BOYSSON Hubert</b>	Médecine interne
<b>Mme DINA Julia</b>	Bactériologie - Virologie
<b>Mme DUPONT Claire</b>	Pédiatrie
<b>M. ÉTARD Olivier</b>	Physiologie
<b>M. GABEREL Thomas</b>	Neurochirurgie
<b>M. GRUCHY Nicolas</b>	Génétique
<b>M. ISNARD Christophe</b>	Bactériologie Virologie
<b>M. JUSTET Aurélien</b>	Pneumologie
<b>Mme KRIEGER Sophie</b>	Pharmacie
<b>M. LEGALLOIS Damien</b>	Cardiologie
<b>Mme LELONG-BOULOUARD Véronique</b>	Pharmacologie fondamentale
<b>Mme LEVALLET Guénaëlle</b>	Cytologie et Histologie

<b>M. MACREZ Richard</b>	Médecine d'urgence
<b>M. MITTRE Hervé</b>	Biologie cellulaire
<b>M. MOLIN Arnaud</b>	Génétique
<b>M. SAINT-LORANT Guillaume</b>	Pharmacie
<b>M. SESBOÛÉ Bruno</b>	Physiologie
<b>M. TOUTIRAIS Olivier</b>	Immunologie
<b>M. VEYSSIERE Alexis</b>	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

### **MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE**

**M. HUMBERT Xavier**

### **MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS**

<b>Mme ABBATE-LERAY Pascale</b>	Médecine générale
<b>M. BANSARD Mathieu</b>	Médecine générale
<b>M. COUETTE Pierre-André</b>	Médecine générale
<b>Mme NOEL DE JAEGHER Sophie</b>	Médecine générale
<b>M. PITHON Anni</b>	Médecine générale
<b>M. SAINMONT Nicolas</b>	Médecine générale
<b>Mme SCHONBRODT Laure</b>	Médecine générale

### **MAITRES DE CONFERENCES ÉMÉRITES**

<b>Mme DEBRUYNE Danièle</b>	Pharmacologie fondamentale
<b>Mme DERLON-BOREL Annie</b>	Hématologie
<b>Mme LEPORRIER Nathalie</b>	Génétique



## Remerciements :

Ce travail de thèse représente pour moi la fin de l'internat, la fin du chapitre caennais, et le début d'une nouvelle aventure en Onco-Dermatologie.

J'ai eu un énorme plaisir à travailler auprès de chaque équipe, aussi bien aux CHU de Caen, de Rouen, aux CH de Saint-Lô, d'Alençon, et au Centre François Baclesse. En dermatologie, en médecine interne, en oncologie, en chirurgie maxillo-faciale, en anatomo-pathologie, en radiothérapie, j'ai trouvé dans chaque stage des équipes compétentes, chaleureuses, et dont l'expérience aura infusé ma pratique d'aujourd'hui et de demain.

Il serait vain de vouloir citer toutes les rencontres qui auront compté pour moi tant elles sont nombreuses et diverses, personnelles et professionnelles. A toutes celles et ceux qui ont partagé ces riches moments avec moi, ces quelques lignes sont l'occasion de vous exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance.

Je remercie tout particulièrement les membres de mon jury, d'avoir accepté de juger mon travail de thèse. Chacun d'eux représente pour moi une étape de mon internat.

Merci au **Pr Aide**, qui a conduit l'idée et guidé la plume. Je te remercie de m'avoir offert la possibilité de travailler sur cet article original. Le parcours fut riche d'apprentissage, aussi bien personnel que professionnel.

Merci au **Pr Domp martin**, pour l'incroyable énergie et l'enthousiasme que tu as su montrer à mon égard mais aussi à l'égard du service de Dermatologie. Permits-moi de te témoigner ici ma profonde estime.

Je remercie également le **Pr Alexandre** avec qui je partage ce même enthousiasme et la même curiosité pour la recherche. J'ai un profond respect pour la vision que tu portes sur cette discipline. Je n'oublierai pas l'accueil sans condition que tu as su témoigner à mon égard avec le **Dr Charles Dolladille**.

Merci au **Dr de Pontville**, d'avoir participé à l'impulsion oncologique qui a guidé le reste de mon internat. Tu as su avec le **Dr Andréa Stéfan**, transmettre la passion, vos connaissances, mais aussi les valeurs d'empathie et d'humanité de l'onco-dermatologie. Vous avez été, et vous resterez des exemples à suivre.

Un immense merci au **Dr Audrey Faveyrial**, pour toute la confiance accordée. Tu auras su transformer l'interne que j'étais en médecin que je suis. Ton service est à ton image : organisé, innovant, engagé, et bienveillant. Un grand merci aussi à ton équipe qui réussit quotidiennement à fédérer un enthousiasme et une humanité que je n'oublierai pas. J'emporte avec moi ces valeurs pour ma pratique professionnelle, mais aussi pour ma vie personnelle.

Je souhaite également remercier **les professeurs de la faculté de Paris VI**, mon berceau, qui m'ont donné le goût inaltéré de la recherche, et du compagnonnage. Merci également aux patients, qui auront répondu à mes sourires par d'autres sourires. C'est votre reconnaissance qui m'anime, et me pousse à viser l'excellence.

Un grand merci au **Dr Kevin Prigent**, j'ai beaucoup apprécié de travailler avec toi dans l'analyse et l'écriture de l'article. J'espère t'avoir apporté autant que tu m'as apporté.

A tous mes co-internes qui m'ont supporté et que j'ai eu le plaisir et l'honneur de représenter pendant 4 ans : **Adrien, Alicia, Elisa, JB, JM, Julia, Lucie, Margot, Marie F, Marie J, Nicolas, Pauline, Tanguy, Victoria...** et aux futures générations ! **Manuel, Barbara, Rachel..**

Une mention spéciale pour le **Dr Tanguy Allard**, mon ami et confident, la célèbre antenne locale, tu m'as supporté sans faille comme co-référent. Ce fut un plaisir d'avoir travaillé ces 2 semaines à tes côtés ! Promis on va se le faire ce golf (et le vol en deltaplane !)

Au **Dr Tristan de Nattes**, le futur de la Néphrologie Rouennaise. Quel chemin depuis l'externat... Ta passion pour les rejets de greffes m'a toujours impressionné. Tu as toujours réussi à me tirer vers le haut, et je t'en suis extrêmement reconnaissant. Je pense que nous avons été le binôme de l'externat le plus productif. Je suis sûr que nos promesses vont tenir et qu'on arrivera au bout du chemin universitaire !

Des remerciements sans parler du **Dr Julie-Charlotte Lambert** serait honteux ! Je garde en mémoire les visites géniales de la médecine interne, et les quelques (nombreux) fous rires. Tu m'as appris à avoir confiance en moi, et plus qu'un « sénior » tu es devenue une amie. Grâce à toi, les recommandations de l'ostéoporose n'ont plus aucun secret pour moi (celles de 2016 en tout cas).

Au **Dr Sabine Pedailles**. Notre Maman de la Dermatologie à tous. Si je pouvais faire un chapitre à part entière sur toi, je le ferais, tant tu m'as apporté, et tant tu as apporté à la Dermatologie Normande. Je n'oublierai jamais la cagnotte des « Du coup », nos discussions formelles et informelles, les consultations toutes plus instructives les unes que les autres, ta vision de la Dermatologie et la rigueur qu'elle impose, l'apprentissage de la dermoscopie, ta bienveillance... Sans oublier : « *Mens sana in corpore sano* ».

A la **team « Koh-Lanta »** au sens large, qui s'agrandit de jour en jour ! Je reste persuadé que la réussite du groupe entier est corrélée au nombre de cookies Herta® qu'on a pu déguster pendant les pauses des nombreuses sous-colles.

Mention spéciale au **Dr Charles Dolladille**, de la même équipe. Tu m'as toujours soutenu, toujours inclus, et on a encore beaucoup de travail à accomplir ensemble. Je dois dire que j'ai hâte de poursuivre nos projets de recherche, et j'espère pouvoir un jour te rendre la pareille.

**A Yann, A Maxime.** Impossible de séparer les remerciements... Plus que des amis, je vous considère comme deux frères. Vous avez toujours été là pour moi, et si j'en suis là aujourd'hui c'est en grande partie grâce à vous. Alors juste, Merci.

**A la famille Wolff-Maury**, Françoise, Pierre, Marion, Romain. A Georges. Merci mille fois pour ces moments vécus ensemble, votre gentillesse et votre générosité.

A ma famille :

**Mes frangins**, même de loin, je ressens votre amour, votre bienveillance, vos ondes positives, et surtout le VPN (merci Adidi), et le NAS (merci Bigo). J'espère vous rendre aussi fier, que je le suis d'être votre petit frère. Je vous aime.

**A papa, maman.** Je vous dédie cette thèse. Mille mercis pour les corrections, et le temps passé à lire un truc incompréhensible. Je vous dois tout. A chaque fois qu'un patient me remercie, je pense à vous. Vous m'avez donné la possibilité de réaliser mon rêve, celui de devenir médecin, et de soigner. Vous êtes des grands-parents formidables, et je revis le bonheur de la transmission, dans les yeux de Judith. A moi maintenant, de prendre soin de vous. Je vous aime.

**A Judith**, ma fille, mon amour. Tu es une petite fille incroyable, qui m'impressionne tous les jours un peu plus. Sache que toi aussi, tu as un peu contribué à cette thèse. Je t'ai endormie plusieurs fois en t'expliquant les détails du stress oxydant, des cellules immunosuppressives, ou bien les voies de signalisations intra-cellulaires. Promis, je te laisserai tapoter le clavier sans problème à partir d'aujourd'hui. Ton Papa qui t'aime.

Et enfin, à toi **Elise**, ma fiancée. Merci pour tout. Parce que tu me connais plus que quiconque, tu connais mes faiblesses, mes doutes, mes peurs, mes ambitions. Toi aussi tu m'impressionnes tous les jours un peu plus. Cette thèse n'existerait pas aujourd'hui sans toi, tout simplement parce que je ne serais même pas médecin sans toi. Tu es le moteur de mes ambitions. C'est dans la tendresse de ton regard que je trouve mon bonheur quotidien. Merci de me suivre dans mes pérégrinations folles, et merci d'avoir dit « Oui ». Je t'aime.

**« *La science prend souvent l'intuition à contre-pied, contredit presque toujours le bon sens et n'a que faire de la bureaucratie des apparences.* »**

**Etienne Klein**

## Abréviations

AJCC: *American Joint Committee on Cancer*

ALC : *Absolute lymphocytes count*/ Nombre absolu de lymphocytes

ALM : *acral lentiginous melanoma* / Mélanome acro-lentigineux.

ANC : *Absolute neutrophil count*/ Nombre absolu de neutrophiles

ASR : *Age Standardised Rate* / taux selon l'âge standardisé

CBPNPC : cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CPA : cellule présentatrice d'antigène

CR : *Complete response*/réponse complète

CRP : protéine C réactive

CTLA-4: *Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*/ Antigène 4 associé au lymphocyte T cytotoxique

ECOG-PS: *Eastern Cooperative Oncology Group Performans Status*

EORTC: *European organisation for research and treatment of cancer*

FDG: Fluorodesoxyglucose ou <sup>18</sup>F-FDG: 2-deoxy-2-[<sup>18</sup>F]fluoro-D-glucose

HPD : *Hyperprogression Disease*/ Hyperprogression de la maladie

ICIs : inhibiteurs de checkpoints immunitaires

ImPERCIST5 : *immune-modified PERCIST 5*

IRM : Imagerie par résonance magnétique

LDH : Lactate déshydrogénase

LM : *Lentiginous melanoma* / Mélanomes lentigineux

LT : Lymphocyte T

MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue

MATV : *metabolically active tumor volume*/volume tumoral métabolique

NLR: *Neutrophiles to lymphocytes ratio*/ ratio neutrophiles/lymphocytes

NM : *nodular melanoma* / Mélanome nodulaire

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OS : *Overall survival*/Survie globale

PD : *Progression Disease*/Progression de la maladie

PD1: *Programmed death 1*

PD-L1: *Programmed death-ligand 1*

PECRIT: *PET/CT Criteria for Early Prediction of Response to Immune Checkpoint Inhibitor Therapy*/ Critères TEP-TDM pour la prédiction précoce des réponses aux inhibiteurs de checkpoints immunitaires

PERCMT: *Pet Reponse Evaluation Criteria for Immunotherapy*

PFS : *Progression free survival*/Survie sans progression

PR : *Partial response*/réponse partielle

SD : *Stable disease*/maladie stable

SFMN : Société Française de Médecine Nucléaire

SNC: Système Nerveux central

SSM: *superficial spreading melanoma* / Mélanome superficiel extensif.

SUV: *Standard Uptake Value*/ Valeur d'absorption standard

TCR : récepteur des cellules T

TEP-TDM : tomographie par émission de positron, couplée à la tomодensitométrie

TIL : Lymphocytes infiltrant la tumeur

TMTV : Volume métabolique total

WBC: *White blood count*/ Leucocytes totaux

1 Y-OS 0 : Patients vivants à 1 an

1 Y-OS 1 : Patients décédés à 1 an

## Listes des tableaux et figures de la thèse

<b>Tableaux et figures :</b> .....	62
Tableau 1 – Classification AJCC numéro 8 du mélanome. ....	62
Tableau 2 – Définitions des paramètres semi - quantitatifs utilisés pour le TEP-TDM .....	63
Tableau 3 - Exemple du suivi clinique, biologique et à l'imagerie d'un patient atteint d'un mélanome selon son stade, tiré des recommandations européennes de 2020 .....	64
Figure 1 – Les principales caractéristiques du cancer, selon <i>Hanahan et al</i> , traduit en français .....	65
<b>Annexes de l'article :</b> .....	66
Table 1- Baseline patients' characteristics .....	66
Figure 1- Methodology for measurement of MATV and uptake in immune organs. ....	67
Figure 2- Bland & Altman analysis between two observers for variables displaying the best ICC.....	68
Figure 3- Correlation matrix using the non-parametric spearman method. ....	69
Figure 4- Evolution of PET (a) and biological (b) variables during treatment with immune checkpoint inhibitors.....	70
Figure 5: Landmarked Kaplan-Meier estimates of 1-year overall survival (1y-OS) according to (a) 3 PET variables reported as the %var and (b) 2 biology variables. ....	71
Supplemental Figure 1: Serial <sup>18</sup> F-FDG-PET/CT imaging in a 64-year-old man with metastatic melanoma treated with nivolumab.....	72
Table 2- Intraclass correlation analysis between observer 1 and observer 2.....	73
Table 3- Mann-Whitney tests results for all PET and biological variables. ....	74
Table 4- ROC analyses results for PET and biological variables of importance to predict 1y-OS .....	75
Table 5- Statistical description of main immune activation variables .....	76

## **Sommaire**

<b>I. Les mélanomes :</b> .....	1
a. Définition.....	1
b. Incidence .....	1
c. Histologie.....	2
d. Facteurs pronostiques anatomo-clinico-biologiques validés :.....	3
<b>II. Traitements :</b> .....	4
a. Changement de paradigme.....	4
b. Les inhibiteurs de checkpoints immunitaires .....	5
i. Principe du fonctionnement .....	5
ii. Les molécules utilisées dans le mélanome métastatique .....	6
iii. Tolérance et effets indésirables :.....	7
<b>III. L'imagerie par tomographie par émission de positron, couplée à la tomomodensitométrie (TEP TDM) au 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (<sup>18</sup>F-FDG) .....</b>	<b>9</b>
a. Principes fondamentaux .....	9
b. Indication du TEP-TDM au 18F-FDG dans le parcours de soin du mélanome. ....	10
c. Profils de réponses sous ICIs et évolution des critères Tep scanographique .....	12
<b>IV. Etat de l'art des marqueurs prédictifs de la réponse à l'immunothérapie utilisable en pratique courante. .15</b>	
a. Biomarqueurs : .....	15
i. Biomarqueurs tissulaires .....	15
ii. Biomarqueurs sériques : .....	17
iii. Biomarqueurs cytologiques .....	19
b. Marqueurs cliniques.....	21
i. L'indice de performance .....	21
ii. Les effets indésirables auto-immuns .....	22
iii. L'atteinte métastatique ou la charge tumorale .....	23
c. Paramètres TEP-scanographique .....	23
i. Charge tumorale .....	23
ii. Organes lymphoïdes .....	24
<b>V. Question de l'étude</b> .....	<b>26</b>
<b>VI. Article</b> .....	<b>27</b>
<b>VII. Discussion</b> .....	<b>50</b>
<b>VIII. Conclusions</b> .....	<b>55</b>
<b>IX. Bibliographie</b> .....	<b>56</b>
<b>X. Tableaux et figures</b> .....	<b>62</b>
<b>XI. Annexes de l'article</b> .....	<b>66</b>

## I. Les mélanomes :

### a. Définition

Le mélanome est une tumeur maligne se développant aux dépens des cellules synthétisant la mélanine : les mélanocytes. Les mélanoblastes sont leurs précurseurs embryonnaires, et descendent de la crête neurale. Cette filiation explique la diversité des tissus au sein desquels se développe la tumeur primitive : la peau, mais également les méninges, les muqueuses ou l'œil (les corps ciliaires, la conjonctive, ou l'uvée). De manière physiologique, le mélanocyte est une cellule qui se divise peu, mais de nombreux facteurs peuvent modifier son taux de prolifération. La transformation du mélanocyte peut conduire à un mélanome à partir d'un naevus préexistant, via par exemple la perte de *p16*, mais dans environ 80 % des cas il se développe *de novo* (1). On estime également que 5-10% de ces tumeurs correspondraient à des formes familiales. Le mélanome est potentiellement une tumeur très agressive ayant la plus grande mortalité des tumeurs cutanées (90% des décès dus à un cancer de la peau) (2).

### b. Incidence

En France métropolitaine, pour la seule année 2018, on estimait à 15 513 le nombre de nouveaux cas de mélanomes de la peau, selon l'agence nationale Santé publique France, dont 51% chez l'homme (3). L'incidence des hommes a rejoint celle des femmes selon ce même rapport. Le nombre de cas incidents pour ces dernières a été multiplié par 3 entre 1990 et 2018 (+189%), en passant d'un taux d'incidence de 6,7 en 1990 à 14,2 pour 100 000 en 2018. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) l'incidence selon l'ASR en Europe, tous âges et tous sexes confondus, est équivalente à celle des États-Unis : respectivement 11.2 et 12,6 pour 100 000



habitants. Dans le reste du monde, le continent le plus touché est l'Océanie avec 28,3 patients pour 100 000 habitants.

Une étude réalisée en 2016 a comparé la projection du nombre de nouveaux cas, jusqu'en 2031 (4), dans 5 populations différentes : celles des Etats-Unis, de l'Angleterre, de la Suède, de la Norvège, et de l'Océanie (Nouvelle-Zélande et Australie) . L'incidence était en augmentation avec l'âge dans toutes les populations étudiées, surtout à partir de 60 ans, avec une globale stabilité des nouveaux cas entre 0 et 59 ans, et une diminution spéculative dans la tranche d'âge 20-59 ans pour l'Océanie. Cependant, les mélanomes épais dont la croissance est en général rapide, apparaissent en quantité stable dans le temps, et aucune modification des comportements d'exposition solaire ou de dépistage ne permet de ralentir l'émergence des nouveaux cas (5).

### **c. Histologie**

La classification anatomoclinique encore utilisée actuellement identifie cinq types principaux de mélanomes. La forme histologique la plus commune (41%) en Europe et dans les populations à peau blanche est le mélanome superficiel extensif ou « *superficial spreading melanoma* », (SSM). Le mélanome nodulaire (NM, 16%) est souvent agressif car épais et son évolution est plus rapide. Les formes lentigineuses ou mélanome de Dubreuilh (LM) atteignent plus particulièrement les zones photo exposées du sujet âgé (2,7 à 14%). Enfin il existe également la forme acrale (« *acral lentiginous melanoma* », ALM) (1 à 5% dans les populations à peau blanche), et pour finir le mélanome des muqueuses. Dans les populations à peau noire, la forme acrale est majoritaire avec 30 à 75% des cas. Dans les populations asiatiques, l'incidence est très faible, en dehors du mélanome choroïdien (2,6,7). Néanmoins la classification histologique n'est pas prise en compte comme facteur pronostique dans la 8 ème

édition du système de stadification de l'*American Joint Committee on Cancer* (AJCC) (8).

**d. Facteurs pronostiques anatomo-clinico-biologiques validés :**

L'indice de Breslow est le facteur histopronostique le plus important. Il s'agit de la profondeur tumorale maximale exprimée en millimètres, considérée comme représentative du volume tumoral. L'indice de Breslow est complété par le niveau de Clark, qui est le reflet du niveau d'invasion tissulaire (Clark I à V, de l'épiderme à l'hypoderme). Cependant, le niveau de Clark n'est plus pris en compte dans la 8<sup>ème</sup> classification de l'AJCC. La présence d'une ulcération sur la tumeur primitive est, quant à elle, un facteur indépendant de mauvais pronostic. Il en est de même pour l'index mitotique élevé (nombre de mitoses/mm<sup>2</sup>), qui ne fait plus partie de la 8<sup>ème</sup> classification, car son intérêt pronostique est surtout utile dans les mélanomes de faible épaisseur. La présence de métastases en transit, satellites ou microsattellites sont des facteurs d'agressivités et de mauvais pronostic indépendants. Biologiquement, le taux de lactate déshydrogénase (LDH), seul marqueur biologique actuellement validé, est pris en compte et de mauvais pronostic s'il est élevé ([Tableau 1 : Classification AJCC n°8](#)).

## II. Traitements :

### a. Changement de paradigme

Le traitement du mélanome est en constante évolution depuis plusieurs années. Au stade initial, le traitement de référence reste la chirurgie, selon des marges de sécurité dictées par l'indice de Breslow, et qui permettent la diminution du risque de récurrence et de complication ultérieure (2). Néanmoins pour les patients non résectables, ou métastatiques, un changement radical de paradigme s'est opéré en l'espace d'une décennie.

Auparavant, pour les stades IV ou III non résectables, la thérapeutique de première ligne était une chimiothérapie à base de Dacarbazine ou de Fotemustine. Elle était associée à des taux de réponses d'environ 13%, dont 5% de réponses complètes, sans amélioration de la survie globale quand on la comparait avec les soins de soutien optimaux (médiane de survie allant de 5,6 à 11 mois) (9). Le traitement adjuvant par interféron alpha, pour les mélanomes à haut risque, était responsable de toxicités non négligeables (grade 3 : 40%), avec un réel impact sur la qualité de vie et un bénéfice sur la survie globale peu probant (10,11). Depuis 2010, des traitements innovants ont été développés à la lumière des découvertes sur l'immunologie et la biologie tumorale.

- *Les inhibiteurs de BRAF et de MEK.*

Ce sont des thérapies ciblées contre l'activation de la voie des MAP kinases, hyperactives dans certaines mutations BRAF (12,13). Environ 45% des mélanomes sont porteurs de ces mutations. Malheureusement, alors que les taux de réponse initiaux sont élevés et rapides, l'apparition d'une résistance aux thérapies ciblées et la progression de la maladie se produisent chez la majorité des patients, dans un délai moyen de 10 mois (14–16).

- Les inhibiteurs de checkpoints immunitaires.

L'Ipilimumab (anti-CTLA4), puis le Nivolumab et le Pembrolizumab (anti-PD1), ont montré une amélioration très significative de la survie sans progression par rapport aux chimiothérapies, quel que soit le statut mutationnel.

## **b. Les inhibiteurs de checkpoints immunitaires**

### **i. Principe du fonctionnement**

Le système immunitaire joue un rôle majeur dans la prévention et le traitement des cancers. La capacité qu'ont les tumeurs malignes d'éviter la destruction immunitaire fait partie des « *hallmarks of cancer* », introduits par Hanahan *et al* (17,18). Il est maintenant bien admis que le système immunitaire est responsable de l'immuno-editing : la capacité de reconnaître et détruire des tumeurs naissantes, mais aussi de sculpter le phénotype tumoral immunogénique (19) - les principaux acteurs de la réponse immunitaire antitumorale étant les lymphocytes T cytotoxiques CD8+ et les cellules NK. Les checkpoints immunitaires sont des récepteurs exprimés à la surface des tissus périphériques et/ou des cellules immunitaires, impliqués dans la maintenance de la tolérance du soi, et la modulation de la réponse immunitaire.

La première étape de ce processus est celle de l'activation du lymphocyte T (LT). Celui-ci reconnaît le complexe antigène tumoral/complexe majeur d'histocompatibilité (Ag/CMH) de la cellule présentatrice d'antigène (CPA) par son récepteur TCR. Son activation nécessite un deuxième signal de costimulation faisant intervenir le ligand B7 de la CPA, et le récepteur CD28 du LT. Cette première phase d'amorce se situe exclusivement dans les tissus lymphoïdes.

Un des récepteurs alternatifs au CD28, le CTLA-4 (« *Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4* ») dont l'affinité pour B7 est plus grande, apparaît juste après cette étape d'activation. Il s'agit d'un co-signal cette fois-ci de régulation négative (B7/CTLA-4) qui inhibe l'activation des LT. Le LT est donc activé via B7/CD28, puis inhibé via B7/CTLA-4. Cette régulation négative du LT est bloquée par l'Ipilimumab.

Secondairement à la phase d'amorce, une phase effectrice se situant dans les tissus périphériques permet aux LT déjà activés de libérer leur activité cytolytique en reconnaissant l'antigène tumoral via leur TCR sur le CMH tumoral.

La régulation négative de cette étape fait intervenir cette fois-ci le récepteur *Programmed Death 1* (PD-1). Il est exprimé à la surface des LT activés et intervient après une longue exposition aux Ag tumoraux. Son ligand (PD-L1) est présent sur les cellules cancéreuses mais également dans le microenvironnement inflammatoire (tumoral ou non). Cette régulation négative du LT peut être bloquée dans le mélanome par des anti-PD1 (Nivolumab, Pembrolizumab).

## **ii. Les molécules utilisées dans le mélanome métastatique**

L'Ipilimumab fut la première immunothérapie ayant montré un bénéfice sur la survie globale chez des patients ayant un mélanome stade III inopérable ou IV, dont la maladie progressait malgré une première ligne de chimiothérapie.

En 2010, une publication du *New England Journal of Medicine* a démontré que la médiane de survie globale était de 10 mois chez des patients recevant de l'Ipilimumab et gp100 (glycoprotéine 100, un vaccin peptidique). En comparaison, elle était de 6,4 mois chez les patients recevant gp100 seul (HR pour le décès de 0.68,  $p < 0.001$ ) (20).

Par la suite, le Nivolumab a montré sa supériorité sur la survie sans progression (PFS) et la survie globale (OS), comparé à la Dacarbazine ou l'Ipilimumab (21,22).

L'étude CHECKMATE 037 incluait 631 patients présentant un mélanome métastatique ou non résécable, dont 272 randomisés dans le bras Nivolumab et 133 dans le bras chimiothérapie. Les réponses objectives étaient rapportées chez 38 des 120 premiers patients (31.7%, IC 95 23.5-40.8), versus 5 des 47 premiers patients du groupe chimiothérapie (10.6%, IC 95 3.5-23.1) (23).

Puis le Pembrolizumab (anti-PD1), a montré en 2013 un taux de réponse de 38% (95% IC : 25-44). Les réponses obtenues étaient durables pour la majorité des patients (avec un suivi moyen de 11 mois) (24,25).

### iii. Tolérance et effets indésirables :

Le mécanisme de cette classe thérapeutique implique une toxicité auto-immune, ou *irAE* (*immune related adverse event*).

Les *irAE* peuvent impliquer de très nombreux organes. Le diagnostic, l'évolution et le management sont profondément différents de ce qu'ils sont avec les molécules cytotoxiques historiquement utilisées dans le mélanome.

L'Ipilimumab est associé à une fréquence élevée d'événements indésirables à médiation immunitaire de grade 1 ou 2 (60%) et sévères 3 ou 4 (14,5%) (20). Avec cette molécule, l'événement indésirable d'origine immunitaire le plus courant est la diarrhée, pour 27 à 31% des patients tous grades confondus. Dans l'étude de Hodi *et al*, parmi les 94 personnes ayant survécu à 2 ans, les effets résiduels comprenaient ceux liés aux réactions au site d'injection (n=16 patients), au vitiligo (n=12), à la diarrhée ou à la colite (n=4) ou au système endocrinien (ex : hypophysite, thyroïdite) nécessitant un traitement hormonal substitutif (n=8).

La prévalence et le type d'*irAE* associés au Nivolumab observés dans les essais cliniques étaient similaires à ceux trouvés dans les études sur le pembrolizumab

(21,24). La fréquence globale des événements indésirables variait de 74,3% à 84,1%. Des événements indésirables graves (grade 3 ou 4) étaient également fréquents, survenant chez 9,0–22,4% des patients. Les événements indésirables liés au Pembrolizumab les plus fréquemment observés étaient l'asthénie (32,8%), le prurit (21,8%), les éruptions cutanées (19,2%), la diarrhée (15,9%) et les nausées (10,1%). Environ 12% des patients participant aux essais cliniques ont présenté des événements indésirables graves (grade 3 ou 4).

En conclusion, l'amélioration du pronostic a considérablement modifié la prise en charge de ces patients, avec cependant des profils de réponses et d'effets indésirables tout à fait différents des chimiothérapies habituelles. Le suivi par imagerie fonctionnelle est ainsi devenu prépondérant. Cette technique permet de donner des informations aussi bien sur la réponse, que sur la tolérance. Sa place et son application en oncologie sont en constante évolution.

### **III. L'imagerie par tomographie par émission de positron, couplée à la tomодensitométrie (TEP TDM) au 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (<sup>18</sup>F-FDG)**

Le TEP-TDM au <sup>18</sup>F-FDG (fluorodesoxyglucose) ou FDG est une technique d'imagerie performante couplant une scintigraphie, laquelle permet d'avoir une information fonctionnelle sur le métabolisme cellulaire, avec une tomодensitométrie. Elle est devenue un outil essentiel dans la prise en charge des patients atteints de cancer dit « hypermétabolique » comme le mélanome, aussi bien pour le diagnostic initial, que le *staging* TNM et le suivi de l'évolution de la maladie sous traitement. Elle permet également d'apporter une information pronostique importante et indépendante dans de nombreux cancers.

#### **a. Principes fondamentaux**

Les limites de la résolution dépendent de la taille de la lésion mais également du type de tumeur. Pour exemple, le mélanome fait partie des tumeurs les plus avides de glucose et de son analogue le <sup>18</sup>F-FDG, ce qui permet d'avoir une visibilité de lésion de très petite taille, aux alentours de 4-5mm (soit environ 10<sup>8</sup> cellules).

La résolution dépend également de la concentration de radioactivité tissulaire, mais aussi du bruit de fond.

La quantification de la radioactivité par les tissus s'exprime par une mesure semi-quantitative en *Standard Uptake Value* (SUV), qui est une concentration tissulaire normalisée : activité du tissu d'intérêt, exprimée en Becquerel (Bq), normalisée par l'activité totale injectée au patient, corrigée par la décroissance et le poids du patient.



$$SUV \approx \frac{C(t)}{D/Poids}$$

$C(t)$  = concentration d'activité (KBq/mL)

$D$  = Dose injectée (KBq) présente au moment de l'examen

$Poids$  = poids du patient.

Le SUV dépend de la composition du corps (masse grasse), de la clairance plasmatique du FDG, et du temps post-injection. Plusieurs paramètres sont disponibles pour quantifier différents SUV et résumés dans le [tableau 2](#).

L'interprétation semi-quantitative s'exprime également par des paramètres tenant compte du volume métabolique total :

- MATV : volume tumoral métabolique (« *metabolically active tumor volume* »)
- TLG : il correspond à l'intégrale de l'activité dans un volume donné équivalent au produit du MATV x SUV<sub>moyen</sub> (« *total lesion glycolysis* »).

En oncologie, pour la plupart des diagnostics et bilans d'extension, l'analyse visuelle, manuelle, ainsi que les différents paramètres du [tableau 2](#), dont le SUV<sub>max</sub>, suffisent. Cependant, afin d'obtenir des marqueurs pronostiques et prédictifs puissants, il est nécessaire d'utiliser les paramètres du TEP-TDM, et de les combiner avec ceux de l'évolution clinique et biologique sous traitement.

#### **b. Indication du TEP-TDM au 18F-FDG dans le parcours de soin du mélanome.**

En 2020, dans les stades précoces (I ou II), la TEP-TDM n'a pas démontré sa supériorité par rapport à la technique du ganglion sentinelle pour détecter les micro métastases (26). Ainsi, les recommandations de la Société française de médecine

nucléaire (SFMN) ne prévoient pas de TEP-TDM systématique dans les stades I et II, et ne recommandent pas l'utilisation du TEP-TDM en remplacement du ganglion sentinelle (26).

En revanche, un TEP-TDM au FDG est recommandé dans les mélanomes à haut risque, ou ayant une atteinte macroscopique ganglionnaire (stade IIIB-C), ou dans le cadre du « *staging* » d'une atteinte à distance connue (stade IV), ou dans le nouvel examen d'une récurrence locale ou à distance.

La SFMN prévoit également l'utilisation de cet examen pour les « *staging* » pré-chirurgicaux d'un ganglion macroscopiquement atteint, ou dans les cas d'un unique site métastatique (26).

L'examen est par ailleurs plus précis que le scanner pour la détection de métastases à distance, chez des patients présentant une suspicion de récurrence - en particulier pour les localisations ganglionnaires, abdominales, notamment rétropéritonéales et la carcinose péritonéale, mais aussi des tissus mous, cutanés, et sous-cutanés.

Cependant l'exploration des lésions pulmonaires est plus précise par le scanner, et le « gold standard » de l'exploration du système nerveux central reste l'imagerie par résonance magnétique (IRM).

Pour autant, il n'existe pas de recommandation précise sur la fréquence d'évaluation du TEP-TDM. Aucun essai randomisé n'est actuellement disponible pour comparer les différents schémas de suivi dans le mélanome, mais plusieurs schémas sont utilisés à l'international (tableau 3) (2). Cependant, la majorité des évaluations de routine se font avant l'introduction de l'immunothérapie, puis toutes les 12 semaines.

Le rôle et l'indication du TEP-TDM au FDG à l'ère de l'immunothérapie, doivent être approfondis et combinés à des critères d'évolution clinico-biologiques, afin d'améliorer la puissance de cet outil.

**c. Profils de réponses sous ICIs et évolution des critères Tep scanographique**

Les profils des réponses aux inhibiteurs de checkpoint immunitaires (ICIs) sont très différents des thérapies ciblées ou des chimiothérapies.

Dès 2009, on observe plusieurs profils de réponses avec l'Ipilimumab (27):

- Une réponse partielle (RP) ou complète (RC), qui peut être précoce ou tardive.
- Une réponse de courte durée c'est-à-dire une progression secondaire à une première bonne réponse.
- Une maladie stable durable (SD), suivie d'une baisse lente et régulière de la charge tumorale totale chez certains patients.
- Une pseudo-progression c'est-à-dire une réponse partielle ou totale après une augmentation de la charge tumorale totale.
- Une progression d'emblée de la maladie (PD)
- Une hyper-progression : une progression dont la cinétique évolue rapidement.

Concernant la pseudo-progression, elle était retrouvée dans 15% des cas sous Ipilimumab, mais plus rarement avec le Nivolumab ou le Pembrolizumab (27). Chez ces patients il existe une discordance clinico-radiologique entre la progression à l'imagerie, et le bon état général du patient. La poursuite du traitement est donc essentielle.

Mais certaines données rétrospectives rapportent également un phénomène d'hyperprogression. L'altération de l'état général est rapide, contrairement à la pseudo-progression, et il existe de nombreuses nouvelles lésions radiologiques. Son incidence varie dans les études de 4 à 29%, et son origine biologique, tout comme sa définition précise sont encore débattues (28).

Par conséquent, l'évaluation de la réponse clinique sous immunothérapie peut être complexe. En effet, pour la première fois, l'évaluation de la masse tumorale n'est pas nécessairement le reflet de la survie. Le FDG n'étant pas spécifique des cellules cancéreuses, sa fixation peut être observée dans des cellules inflammatoires, très actives sur le plan métabolique.

Les critères de réponses métaboliques utilisés habituellement pour les TEP-TDM, tels que les critères de l'**EORTC** (*European organisation for research and treatment of cancer*) ou les critères **PERCIST** (*Pet responses criteria in solid tumors*), ne prennent pas en compte ces différents profils de réponses, dont la pseudo-progression.

En 2017, une équipe a évalué plusieurs critères morphologiques (**RECIST** : *responses evaluation criteria in solid tumors* , **irRC** : *immune-related response criteria*) et métaboliques (**EORTC**, **PERCIST**) sur une cohorte de 20 patients traités majoritairement par Ipilimumab, pour finalement proposer une combinaison de critères **PECRIT** (*PET/CT criteria for early prediction of response to immune checkpoint inhibitor therapy*), afin de prédire la réponse à 4 mois (29). L'équipe de Cho et al a introduit ici les notions de « bénéfice clinique » en regroupant les réponses complètes et partielles et « absence de bénéfice clinique » avec la progression de la maladie, visible sur un TEP-TDM précoce à 1 mois. Chez les patients stables, l'augmentation > 15.5% dans le  $SUL_{peak}$  de la lésion la plus avide est associée à un « bénéfice clinique »

et prédit une réponse partielle ou complète au 4<sup>ème</sup> mois, ou une maladie stable après 6 mois. La sensibilité de leur algorithme était de 100%, la spécificité de 93.3%.

Cette façon de procéder par l'évaluation en deux temps permet d'améliorer la prédiction des bénéfices cliniques grâce à une évaluation de l'imagerie fonctionnelle régulière. D'autres critères construits sur la base de ce principe et spécifiquement pour l'immunothérapie ont fleuri. Dans le cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules (CBPNPC) notamment, **iPERCIST** (*immune Pet responses criteria in solid tumors*) prédit la survie à 1 an à plus de 90% (contre 11% pour les non répondeurs), en considérant répondeurs les CR, PR, et les SD aux deuxième TEP-TDM. Les pseudo progressions doivent être confirmées par une 3<sup>ème</sup> imagerie (30).

En 2018, Anwar *et al* proposaient les critères **PERCIMT** (*Pet Reponse Evaluation Criteria for Immunothérapie*) (31), qui utilisaient un nombre absolu de 4 nouvelles lésions avides au FDG sur des TEP post-Ipilimumab chez des patients atteints de mélanome pour prédire la réponse au traitement. Ils ont démontré que le bénéfice clinique pouvait être corrélé au nombre absolu de nouvelles lésions avides au FDG.

La modification des critères **PERCIST**, remplacés par **imPERCIST5**, a permis d'améliorer la valeur pronostique du TEP scanner, en changeant la définition des « nouvelles lésions » dans le TEP post-immunothérapie (2). Ainsi, un patient atteint de mélanome sous Ipilimumab n'est classé en progression que si l'intensité de l'absorption du FDG augmente d'au moins 30%.

En conclusion, la présence et l'intensité de l'absorption métabolique des lésions tumorales au TEP-TDM FDG semble être un facteur pronostique important, notamment en termes de survie sans progression, mais le choix des meilleurs paramètres semi-quantitatifs reste à explorer.

#### **IV. Etat de l'art des marqueurs prédictifs de la réponse à l'immunothérapie utilisable en pratique courante.**

Afin d'optimiser le bénéfice clinique de ces traitements, de minimiser les risques de toxicité, et de guider les combinaisons d'immunothérapie, il est nécessaire de développer des marqueurs prédictifs de la réponse clinique, de l'OS ou de la PFS. Nous répertorierons dans ce chapitre les marqueurs les plus étudiés, dont l'utilisation et l'accessibilité en pratique courante sont déjà intégrées dans le parcours de soins, qu'ils soient biologiques, cliniques ou liés au TEP-scanner. Les marqueurs les plus pertinents seront ainsi utilisés dans notre étude.

##### **a. Biomarqueurs :**

Dans la littérature, beaucoup de biomarqueurs ont été étudiés pour prédire la réponse à l'immunothérapie, dans de nombreux modèles de cancers (32). On retrouve plus de travaux sur les anti-CTLA4, que sur les anti-PD1. A l'inverse, l'étude des marqueurs des tissus tumoraux prédomine pour les anti-PD1 (33).

##### **i. Biomarqueurs tissulaires**

- **Le statut PD-L1**

Beaucoup d'efforts ont été réalisés sur l'étude du statut PD-L1, c'est-à-dire la proportion de cellules tumorales, ou de cellules immunitaires, positives à l'immunohistochimie pour le ligand de PD1. Pour le mélanome, ce biomarqueur comporte une bonne valeur prédictive positive, mais une mauvaise valeur prédictive négative.

En effet, avec un seuil de positivité PD-L1 à 5% des cellules en immunohistochimie pour un cancer de vessie ou pour le CBPNPC, on retrouve une meilleure survie globale dans le groupe PD-L1+ *versus* PD-L1 – (34,35).

En pratique, on retrouve entre 11 et 20% de réponses objectives aux ICIs, chez des patients ayant un mélanome PD-L1 négatif. Quand on étudie la réponse globale, elle atteint 41% en monothérapie avec le Nivolumab, et 54% en combinaison avec l'Ipilimumab (36,37).

Ce biomarqueur pourtant attrayant ne permet pas de prédire la réponse sous immunothérapie dans le mélanome.

- Les lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL)

La signification des *TILs* a également été étudiée sur de nombreux cancers dont le cancer colorectal, le CBPNPC et le mélanome (38–40).

Une plus grande proportion de LT CD8+ intra tumoraux serait de meilleur pronostic dans certains cancers, y compris le mélanome (39). Mais ces données ne sont pas univoques dans toutes les études.

D'une manière intéressante, Hamid *et al* a étudié l'augmentation de la densité des *TILs* dans des échantillons tumoraux de mélanome prélevés après la deuxième dose d'Ipilimumab. Ils ont montré une activité clinique significativement plus élevée pour les échantillons n'ayant pas eu cette augmentation (41). Néanmoins il n'est pas retrouvé d'association statistiquement significative sur le nombre de *TILs* à baseline.

Devant ces résultats encourageants, plusieurs équipes ont tenté une approche de thérapies cellulaires adaptatives. L'extraction des *TILs* autologues, leur expansion *in*

*vitro* puis l'injection intraveineuse ont montré de bons résultats pour le CBPNPC, mais ces données doivent être approfondies (40,42).

Toutefois, cette technique invasive nécessitant une ou plusieurs biopsies, en plus des résultats discordants dans diverses études, rend son utilisation complexe chez les patients déjà métastatiques.

## ii. Biomarqueurs sériques :

Les marqueurs sanguins périphériques sont une source peu invasive de biomarqueurs. Certains peuvent être inclus dans le bilan pré-thérapeutique avant chaque perfusion d'immunothérapie. Cela inclut les leucocytes totaux (WBC ou « *white blood count* »), les lymphocytes totaux (ALC ou « *absolute lymphocyte count* »), les polynucléaires neutrophiles (ANC ou « *absolute neutrophils count* »), les éosinophiles, les monocytes, les lactates déshydrogénases (LDH), ou le S100B.

De nombreuses études rétrospectives ont rapporté des associations entre certains biomarqueurs et la survie globale ou le bénéfice clinique, et sont décrites ci-dessous (33).

- Les LDH

Le taux de LDH est un des biomarqueurs sériques les plus étudiés, mais il n'est pas spécifique aux *ICs*. Il est le reflet de la charge tumorale puisque relargué au moment de la lyse cellulaire tumorale. Il peut être élevé dans de nombreuses situations physiologiques ou pathologiques, et n'est donc pas spécifique. Ces enzymes jouent un rôle dans le métabolisme mitochondrial et la glycolyse des cancers (effet Warburg). Elles convertissent le pyruvate en lactate en condition anaérobie. En revanche un fort taux de lactate régule négativement les LDH (43). Dans le mélanome, un faible taux ou une diminution de ce taux pendant le traitement (anti-CTLA4 ou anti-PD1) est



associé à une meilleure réponse clinique et une OS prolongée. Toutefois, un faible taux pré-traitement n'est corrélé qu'avec l'OS, ce qui lui donne une valeur plus pronostique que prédictive (33). Ainsi la diminution de ce taux durant la thérapie est plus informative pour prédire la réponse que le taux de LDH Baseline.

Par ailleurs, comme pour la protéine C réactive (CRP), l'augmentation des LDH durant le traitement est synonyme de progression (44).

Les méthodes de dosages varient selon les laboratoires, mais la valeur seuil acceptée est en général <250 UI/L et peut différer selon l'âge du patient.

- S100B

La protéine S100B est également libérée lors de la lyse cellulaire. Son élévation est étudiée dans de nombreuses affections neurologiques, dont les traumatismes crâniens ou les accidents vasculaires cérébraux. Sa variation n'est donc pas spécifique du mélanome (45). Ce biomarqueur n'est pas utilisable pour la détection précoce des mélanomes car moins de 10% des patients aux stades I/II sont au-dessus de la valeur seuil. Néanmoins, sa variation positive est corrélée à la progression de la maladie. Dans un stade III, elle peut précéder l'apparition de métastases à distance. De même l'échappement du traitement au stade IV s'accompagne d'une augmentation du biomarqueur (46,47).

Selon la méthode de dosage, sa valeur seuil haute, permettant d'écarter quasiment tous les sujets sains, se situe à 0,2µg/l.

Par conséquent, ce dosage peut être utile aux stades III ou IV pour le suivi de la réponse au traitement et la détection d'une progression, mais sa prédiction reste faible.

### iii. Biomarqueurs cytologiques

Les biomarqueurs cytologiques sont utilisés systématiquement avant chaque cure d'immunothérapie dans le bilan pré-thérapeutique. Ils comprennent essentiellement les éléments de la formule sanguine et plaquettaire.

Le nombre de leucocytes totaux n'a montré aucune corrélation avec la réponse ou l'OS, de même que le taux de cellules tumorales circulantes, les cellules NK, les basophiles, ou les monocytes.

Le taux circulant de cellules myéloïdes suppressives (MDSC), qui inhibent l'activation des LT, a été uniquement étudié dans le cadre des anti CTLA4, et n'a pas montré de corrélation avec la réponse dans la plupart des études, hormis une corrélation sur l'OS (33).

Peu d'études ont évalué la valeur du nombre circulant d'éosinophiles. Elles ont retrouvé la plupart du temps une association avec l'OS. La médiane de survie pour une éosinophilie >20% était de 35 mois (19-60) vs 16 mois (1-117) dans l'étude rétrospective de Moreira *et al* (48).

Le nombre absolu de lymphocytes est le marqueur qui a été le plus souvent étudié, essentiellement pour les anti-CTLA4. Il a montré pour la plupart des études une corrélation significative avec l'OS et la réponse pour des taux  $\geq 1000/\mu\text{l}$  (3<sup>ème</sup> semaine : HR 0.40 [P=0.003], 6<sup>ème</sup> semaine : HR 0.33 [P=0.001] )(49). Néanmoins, au sein des lymphocytes, une distinction des sous-populations doit être faite selon l'ICI utilisé. L'analyse cytométrique de l'étude de Subrahmanyam *et al* montre qu'il existe plusieurs candidats différents selon l'ICI utilisé. Ils ont montré sur deux cohortes distinctes (anti-PD1 et anti-CTLA4) qu'il existait des différences dans le ratio CD4/CD8 entre les répondeurs et les non répondeurs pour l'Ipilimumab, non retrouvées pour l'anti-PD1.

A contrario, pour les anti-PD1, les auteurs ont trouvé une différence significative des populations de CD69+, MIP1 $\beta$  et des cellules NK entre les répondeurs et les non répondeurs (50). Aujourd'hui, ces résultats ne sont pas utilisables en pratique courante.

- Le ratio neutrophile/lymphocyte (NLR) et le NLR dérivé (dNLR)

L'inflammation systémique s'accompagne de changement dans la répartition des sous populations leucocytaires. Le NLR et le dNLR sont le reflet de ces changements.

Le NLR et le dNLR sont calculés comme suit :

$$NLR = ANC / ALC$$

$$dNLR = ANC / (WBC - ALC)$$

*ANC : nombre absolu de polynucléaires neutrophiles, ALC : nombre absolu de lymphocytes, WBC : Leucocytes totaux*

Plusieurs études ont montré la capacité du NLR à prédire la réponse dans différents types de cancer, tel que le cancer de la prostate, les cancers colorectaux, les adénocarcinomes pulmonaires, ou dans le mélanome (51).

Pour le NLR, le cut-off permettant de prédire une mauvaise réponse varie selon les études et les cancers. Il est  $\geq 4.7$  dans le mélanome,  $\geq 5$  pour les CBPNPC,  $\geq 3$  pour les cancers du rein (51).

Il existe de nombreux autres biomarqueurs à l'étude, mais non intégrés à la pratique courante. Leurs disponibilités et leurs coûts ne permettent pas de les intégrer dans l'usage ordinaire. On retrouve entre autres : l'étude de la clonalité des chaînes beta

des lymphocytes T, la charge tumorale, la charge néo antigénique (ou charge mutationnelle), ou les signatures de gène immunitaire.

## **b. Marqueurs cliniques**

### **i. L'indice de performance**

Il s'agit d'une mesure globale de l'état de santé du patient, sans pour autant qu'il soit le reflet des comorbidités sous-jacentes. Les deux échelles les plus couramment utilisées dans les essais cliniques sont l'ECOG -PS (*Eastern Cooperative Oncology Group- Performance status*), aussi appelé score OMS ou PS noté de 0 à 5, et l'indice de Karnofsky noté de 0 à 100. Un bon état général, noté 0 pour le PS ou 100% pour l'indice de Karnofsky, est corrélé avec une OS prolongée. Cela étant dit, les patients ayant un ECOG-PS >2 ne sont en général pas inclus dans les essais cliniques. En effet, moins l'état général est bon (à partir d'un PS à 3), plus la tolérance aux ICIs est mauvaise (52). Cette exclusion explique, de fait, l'absence de données validées sur la valeur pronostique ou prédictive de l'indice de performance et de leurs variations durant le traitement.

Par ailleurs, les caractéristiques cliniques intrinsèques non modifiables telles que l'âge ou le sexe, n'apparaissent pas comme des éléments prédictifs majeurs concernant le mélanome et l'immunothérapie. Une seule étude, menée en 2017 par Nosrati *et al* rapporte l'importance du sexe féminin et de l'âge <65 ans. Ils les incluent dans une échelle de prédiction avec 3 autres paramètres : un traitement par Ipilimumab antérieur (2 points), un taux de LDH élevé (1 point), et la présence de métastase hépatique (2 points). Un score élevé prédit une moins bonne réponse aux anti-PD1 (AUC 0.73 [IC95% 0.67, 0.8]) (53). Ces éléments n'ont pas été validés de manière prospective.

## ii. Les effets indésirables auto-immuns

Les effets indésirables auto-immuns sont le reflet de la capacité de ces traitements à inhiber les checkpoints immunitaires. De nombreuses études rétrospectives ont montré des corrélations significatives entre les *irAE* et la réponse clinique ou la survie globale (54,55).

Dans une étude incluant 173 patients avec un mélanome métastatique traité par anti-PD1, 59% ont eu un effet indésirable auto-immun, tous grades confondus. Dans leur analyse multivariée, les *irAE* sont apparus comme un facteur indépendant associé à une survie sans progression plus longue (HR 0.47 [0.26-0.86] ; p=0.016), et une meilleure survie globale (HR 0.39 [0.18-0.81], p=0.007). Chez les patients ayant expérimenté un effet indésirable, ceux ayant eu du vitiligo avaient une tendance à une survie globale plus importante que les autres mais de façon non significative (56).

Une autre étude rétrospective a analysé 576 patients en compilant les données de 4 études dont 2 phases III, tous sous Nivolumab. La réponse objective était significativement plus haute dans les patients *irAE* +, tous grades confondus, versus *irAE* -. Cependant cette étude n'a pas montré de différence sur l'OS et la PFS (57).

Par ailleurs, l'apparition d'*irAE* n'est pas dose-dépendante sous anti-PD1, à l'inverse de l'Ipilimumab seul ou en combinaison (58). Une méta-analyse retrouvait significativement plus d'effets indésirables sévères (grade 3-4) avec les hautes doses d'anti-CTLA4 qu'avec des doses plus basses, notamment chez les patients traités en monothérapie (37% versus 23%, p<0.001). D'après cette même méta-analyse, les patients bénéficiant d'un ICI en première ligne présentaient également plus d'*irAE* que ceux en deuxième ligne (58).

### iii. L'atteinte métastatique ou la charge tumorale

Certains sites métastatiques sont des facteurs de risques de mauvaise réponse et de survie sans progression plus courte comme les sites hépatiques et cérébraux (59).

A contrario, l'atteinte cutanée et l'atteinte pulmonaire seraient des localisations métastatiques ayant un meilleur pronostic par rapport à l'atteinte des autres organes (60).

### c. Paramètres TEP-scanographique :

L'imagerie métabolique permet de visionner les changements métaboliques tumoraux, eux-mêmes à l'origine des changements anatomiques, et pourrait ainsi prédire la réponse à l'immunothérapie plus précocement (61).

#### i. Charge tumorale

- MTV et TLG

La mesure du volume métabolique total (MTV) permet d'appréhender le volume global des lésions actives métaboliquement. La mesure de la glycolyse totale (TLG) est le produit du  $SUV_{moyen} \times MTV$  de l'ensemble des lésions. Ce dernier paramètre permet d'avoir une information sur le métabolisme du volume tumoral. Ces deux paramètres ont été étudiés sur 56 patients atteints de mélanome muqueux ou cutané étant traité par ICIs. Les auteurs ont montré une corrélation négative significative et indépendante à la durée de réponse sous immunothérapie, essentiellement pour les mélanomes cutanés et non muqueux (62). Ces deux paramètres sont donc de potentiels facteurs pronostiques à explorer par des études prospectives.

## ii. Organes lymphoïdes

On distingue les organes lymphoïdes primaires et secondaires. Les premiers servent au développement et à la maturation des lymphocytes, tel que le thymus ou la moelle osseuse. Les seconds quant à eux sont les lieux d'initiation de la réponse adaptative et comprennent les ganglions, les tissus MALT (*Mucosa Associated Lymphoid Tissue*), et la rate.

- Ratio  $SUV_{rate}/SUV_{foie}$  (SLR)

Au TEP-TDM, le SUV normal du foie ou de la rate est homogène et en général compris dans une gamme assez étroite. Concernant le foie chez l'homme, il est de l'ordre de 2.3 à 5.0 et de 2.3 à 3.8 chez la femme (63).

Habituellement, la rate présente un SUV moins important que le foie (1.6 à 4.1 chez l'homme, 1.6 à 3.2 chez la femme) avec un ratio du SUV rate/foie ou SLR (*spleen to liver ratio*) d'approximativement 0.9.

Un SLR élevé peut être le témoin d'une infection ou d'un cancer avec une inflammation systémique, comme les cholangiocarcinomes ou la maladie de Hodgkin. Mais son augmentation pourrait également être le témoin d'une activation lymphocytaire lors de certaines immunothérapies, notamment les anti-CTLA4 et l'interféron alpha 2b (64).

Une étude rétrospective a montré sur 90 patients atteints de mélanome, qu'un SLR Baseline >1.1 après Ipilimumab en monothérapie était associé à une mauvaise réponse, une OS (médiane de survie de 1 vs 21 mois, HR 5.83,  $p=0.0001$ ) et une PFS réduite (médiane 1 vs 14 mois, HR 3.92,  $p=0.003$ ).

A notre connaissance, il n'existe aucune étude évaluant les variations du SLR pendant l'immunothérapie.

- Ratio  $SUV_{moelle\ osseuse}/SUV_{foie}$  (BLR)

De la même manière que la rate, la moelle osseuse peut être le témoin d'une inflammation liée au cancer, détectée au TEP TDM par l'augmentation du SUV par rapport au foie. Le BLR (*bone marrow to liver ratio*) est le reflet de cette modification métabolique. Dans une récente étude de Seban *et al*, sur 55 patients atteints de mélanome sous anti-PD1, un BLR élevé ( $\geq 0.79$ ) était associé à une PFS et une OS plus courte de manière indépendante en analyse uni et multivariée. Cette même équipe propose par ailleurs un score pronostique avec le volume métabolique total (TMTV) et le BLR : risque faible ( $TMTV \leq 25\text{cm}^3$  et  $BLR \leq 0.79$ ), intermédiaire ( $TMTV > 25\text{cm}^3$  ou  $BLR > 0.79$ ) ou élevé (les deux élevés)(65).

- Signaux relatifs aux effets indésirables :

Le TEP-TDM est un examen permettant de diagnostiquer précocement les irAE cités ci-dessus en visualisant l'inflammation qu'ils engendrent, et en comparant aux imageries baseline. Le TEP permet de détecter ces signaux avant tout symptôme clinique. La valeur pronostique de ces irAE, dont nous avons déjà évoqué l'importance (cf. marqueurs cliniques), est ainsi améliorée en dépistant précocement les lésions tumorales. Prigent et Aide ont ainsi proposé récemment une checklist pour le médecin nucléaire afin d'évaluer la réponse sous immunothérapie et la détection des irAE en pratique courante (61,66).



## V. Question de l'étude

La profonde modification de l'arsenal thérapeutique, grâce notamment à l'arrivée de l'immunothérapie dans le mélanome, a nécessité l'exploration de biomarqueurs cliniquement pertinents. De nombreux travaux ont été réalisés dans le domaine clinico-biologique, sans pour autant être entrés en pratique courante. Peu d'études se sont intéressées à la valeur prédictive des signaux d'activation lymphocytaire au TEP-scanner, et encore moins à leur corrélation à la biologie ou à la clinique tout au long du suivi.

Notre étude rétrospective, monocentrique et observationnelle vise à évaluer la variabilité inter-observateurs de ces paramètres, leurs valeurs pronostiques, et leurs corrélations avec les biomarqueurs utilisés en pratique clinique.

## VI. Article

**“Assessing immune organs on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT imaging for therapy monitoring of immune checkpoint inhibitors: inter-observer variability, prognostic value and evolution during the treatment course of melanoma patients.”**

Kevin Prigent<sup>1\*</sup>, Charline Lasnon<sup>2\*</sup>, Emilien Ezine<sup>3\*</sup>, Mélanie Janson<sup>4</sup>, Nicolas Coudrais<sup>1</sup>, Elisa Joly<sup>3</sup>, Laure Césaire<sup>3</sup>, Andrea Stefan<sup>3</sup>, Michel de Pontville<sup>3</sup> and Nicolas Aide<sup>1,4</sup>.

\*Equally contributed to this work.

<sup>1</sup> Nuclear Medicine Department, University Hospital, Caen, France

<sup>2</sup> Nuclear Medicine Department, François Baclesse Cancer Centre, Caen, France

<sup>3</sup> Dermatology Department, University Hospital, Caen, France

<sup>4</sup> Normandy University, Caen, France

### **Corresponding author:**

Prof. Nicolas Aide, M.D, Ph.D

Nuclear Medicine Department, University Hospital

Avenue Côte de Nacre,

14000 Caen Cedex 5, France

e-mail: [aide-n@chu-caen.fr](mailto:aide-n@chu-caen.fr)

Ph: +33 231063244

Fax: +33 231064927

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9207-0847>

## ABSTRACT

**Background:** Immune checkpoint Inhibitors (ICIs) have significantly improved survival in advanced melanoma. There is a need for robust biomarkers to identify patients who do not respond. We analysed 14 baseline  $^{18}\text{F}$ -fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography ( $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT) metrics and their evolution to assess their correlation with patient outcome, compared to 7 established biological markers and 7 clinical variables.

**Methods:** We conducted a retrospective monocentric observational study of 29 patients with advanced melanoma who underwent baseline  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT, followed by an early monitoring PET/CT (iPET) scan after one month of treatment and follow-up studies at 3<sup>rd</sup> (M3PET) and 6<sup>th</sup> month (M6PET).  $^{18}\text{F}$ -FDG uptake in immune organs {spleen, bone marrow, ileocecal valve} and derived spleen-to-liver (SLR) and bone-to-liver (BLR) ratios were reviewed by two PET readers for reproducibility analysis purposes including 14 PET variables. The most reproducible indexes were used for evaluation as predictors of overall survival (OS) in comparison with PET response using imPERCIST5, whole-body metabolic active tumour volume (WB-MATV) and biological parameters {lactate dehydrogenases (LDH), reactive protein c (CRP), white blood count (WBC), absolute lymphocytes count (ALC), neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and derived neutrophils to lymphocytes ratio}.

**Results:** Strong reproducibility's {intraclass coefficients of correlation (ICC) > 0.90} were observed for spleen anterior  $\text{SUV}_{\text{peak}}$ , spleen MV, spleen TLG, spleen length and  $\text{BLR}_{\text{mean}}$ . ICC for  $\text{SLR}_{\text{mean}}$  and ileocecal  $\text{SUV}_{\text{mean}}$  were 0.86 and 0.65, respectively. In the 1y-OS 1 group,  $\text{SLR}_{\text{mean}}$  tended to increase at each time point to reach a significant difference at M6-PET ( $p = 0.019$ ). The same trends were observed with spleen  $\text{SUV}_{\text{peak}}$  anterior and spleen length. In the 1y-OS 0 group, a significant increase of spleen

length was found at iPET, as compared to baseline PET ( $p = 0.014$ ) and M3-PET ( $p = 0.0239$ ).

Univariable Kaplan-Meier survival analysis found that  $\Delta$  spleen length,  $\Delta$  M3-SLR<sub>mean</sub>, baseline LDH,  $\Delta$  NLR and response at M6PET were all predictors of 1y-OS.

**Conclusions:** SLR<sub>mean</sub> is recommended as a prognosticator in melanoma patients under immunotherapy: its increase greater than 25% at 3 months, compared to baseline, was associated with poor outcome after ICIs.

**KEYWORDS:** Immune checkpoint inhibitors; melanoma;  $^{18}\text{F}$ -FDG; PET/CT; spleen; ileocecal valve; imPERCIST; irAE

## INTRODUCTION

Immunotherapy has recently emerged as an important advance in cancer treatment. To date, the main immunotherapeutic approach that has been translated into survival benefit and is currently used in practice is the immune checkpoints inhibitors (ICIs). Broadly, the two most effective classes of agent are directed, alone or in combination, towards cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) or the programmed cell death protein 1 (PD1) or the PD1/programmed cell death protein ligand 1 (PD1/PD-L1) axis, which are negative regulators of T cell immune function. The CTLA-4 inhibitor, ipilimumab, has been shown to improve survival rates in melanoma patients [1]. PD1/PD-L1 inhibitors (of which the first validated agents were pembrolizumab and nivolumab) have been shown to improve survival rates among patients with various tumour types [2, 3].

Response assessment with PET/CT during immunotherapy can be rather challenging, since  $^{18}\text{F}$ -FDG avid inflammatory reactions can occur during the treatment and may be associated with pseudoprogression, leading to misinterpretation of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET images [4-6]. The PET community has been very active in the last decade, coming up with various response criteria including PERCIMT (PET Response Evaluation Criteria for Immunotherapy), PECRIT (PET/CT Criteria for Early Prediction of Response to Immune Checkpoint Inhibitor Therapy), iPERCIST or PERCIST (PET Response Criteria in Solid Tumours)-adapted criteria such as imPERCIST5 [7].

On top of these PET response criteria created or modified to meet the challenges raised by immunotherapy, several groups have reported baseline prognostic factors of response such as the metabolic active tumour volume (MATV) [8] and signs of immune activation [9]. However, while inter-observer variability in MATV delineation is known [10] and percentage change in SUV used to discriminate between responders and non-

responders when using PERCIST or PERCIST–adapted criteria are based on test-retest studies [11], little data is available on immune activation signs [12]. The first sign of immune activity to be checked is spleen enlargement and/or increased uptake leading to an inversion of the spleen to liver ratio (SLR) [13, 14]. Some groups also proposed other signs such as the bone marrow to liver ratio (BLR) [15] and uptake in the ileocecal valve [16].

The biological counterparts of PET signs of immune activation are absolute lymphocytes count (ALC) and neutrophils to lymphocytes ratio (NLR), the latter having been shown to be a prognosticator in melanoma patients [17]. Also correlated to a worst survival is serum lactate dehydrogenase (LDH), a biochemical marker of tumour load [18].

The main objective of the present study was to seek the most clinically useful signs of immune activation on  $^{18}\text{F}$ -FDG PET images to predict the prognostic of melanoma patients ongoing ICIs therapy. Ideally these signs should be highly reproducible between observers, simple and fast to compute and should be independent factors of response, especially compared to widely available, cost-effective and established biological parameters.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Study design**

We conducted a retrospective monocentric observational study in melanoma patients aged over 18, and who were referred for a  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT for therapy monitoring of immunotherapy. After searching in our database, out of 63 patients screened, 36 patients met the criteria and were included. Inclusion criteria were: (i) immunotherapy

treatment; (ii) availability of baseline  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT, followed by an early monitoring PET/CT scan (iPET) after one month of treatment and follow-up studies at 3<sup>rd</sup> (M3PET) and 6<sup>th</sup> month (M6PET). Seven patients were excluded based on the following criteria: (i) baseline whole-body metabolic active tumour volume (WB-MATV) or TLG (WB-TLG) at 0; (ii) missing data. PET/CT acquisitions dated from 11/08/2017 to 04/12/2019. Institutional review board approval was not required because in accordance with European regulation. French observational studies without any additional therapy or monitoring procedure do not need the approval of an ethics committee. Nonetheless, in accordance with the European General Data Protection Regulation, we sought approval to collect data for this work from the national committee for data privacy, with the registration no. 2081250 v 0.

### **$^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT protocol**

Patient's preparation in the PET unit and PET acquisition and reconstructions were performed as per the European Association of Nuclear Medicine (EANM) guidelines for PET tumour imaging [19, 20], our PET unit being EANM research Ltd (EARL) accredited since 2015.  $^{18}\text{F}$ -FDG was injected after glucose level had been checked to be < 200 mg/dl in patients who had been fasting for at least 4 hours. Patients were tentatively scanned 60 minutes after tracer injection. Patients were scanned from the base of the skull to mid-thigh, except for patients with primary melanoma of the lower limb, for whom a whole-body acquisition was performed. Two different PET/CT scanners were used: a Vereos system (Philips Medical Systems. Cleveland OH) and a Biograph TrueV with extended field-of-view (Siemens Medical Solutions). On the Biograph system the injected dose was 4.0 MBq/kg with time per bed position of 2min and 40s for body mass index (BMI) < 25 kg/m<sup>2</sup> and 3min and 40 s and for patients with BMI  $\geq$  25 kg/m<sup>2</sup>. To meet the EARL harmonizing standards, PET/CT raw data were

reconstructed with a 3D-OSEM (ordered subsets expectation-maximization) reconstruction algorithm with point spread function (PSF) modeling (3 iterations and 21 subsets) and a 6.3 mm post-reconstruction Gaussian filter, using a 128 x 128 matrix size. Concerning the Vereos system, the injected dose was 3.0 MBq/kg with a time per bed position of 2 min whatever the patient's weight. To fulfill the EARL accreditation, PET/CT raw data were reconstructed with a 3D-OSEM reconstruction algorithm with PSF modeling (2 iterations and 10 subsets) with a 5 mm post reconstruction Gaussian filter, using 288 x 288 matrix size.

### **<sup>18</sup>F-FDG PET/CT analysis**

PET readers were blinded to the results of any other imaging tests, clinical outcomes or biological data. The analysis was carried out using LIFEx, an open source software [21]. All quantitative analyses were made using EARL-compliant PET images [20].

Fourteen PET variables involving the spleen, bone marrow and the ileocecal valve were reviewed by two PET readers as potential immune activation signs, at baseline, iPET and M3PET, for reproducibility analysis purposes. Other biomarkers (PET response and WB-MATV/TLG) were assessed by a single nuclear medicine physician. Absolute values were considered for the baseline PET and relative values expressed as percentage of variation (%var) for iPET and M3PET.

#### *Evaluation of immune activation and immune-related side effects*

First, spleen immune activation signs were analysed as follows:

- The maximum standardized uptake values ( $SUV_{max}$ ), the  $SUV_{mean}$ , from a volume of interest (VOI) of 20 mm of diameter placed on the central part of the spleen.



- Three  $SUV_{peak}$  values were recorded in anterior, median and posterior part of the spleen.
- The spleen length was recorded as recommended as per the American Roentgen Ray Society on the CT [22] part of the PET/CT scan, using the greatest splenic measurement in the cranio-caudal axis from a coronal view.
- SLR was calculated from a central VOI of 20 mm of diameter on spleen and a 30 mm VOI on the right liver lobe using  $SUV_{max}$  and  $SUV_{mean}$  values, referred to as  $SLR_{max}$  and  $SLR_{mean}$ . respectively [15].
- The metabolic volume (spleen MV) and total lesion glycolysis (spleen TLG) from the whole spleen PET volume from interpolated regions of interest (ROI), using the 2D pencil tool around the spleen from LIFEx Software [21].

Secondly, other potential lymphocyte activation signs were recorded from the whole ileocecal valve using an adaptive VOI [16] and the bone marrow using  $SUV_{max}$  and  $SUV_{mean}$ . Osteomedullary activation was measured from a 20 mm VOI located on the right iliac bone. Then BLR were calculated and referred to as  $BLR_{max}$  and  $BLR_{mean}$  still using a 30 mm VOI on right liver lobe.

Finally, all potential signs of immune related adverse effects (irAEs), were recorded based on existing literature [13, 23-25]. Corticosteroid use for more than 2 months was also recorded.

#### *Evaluation of MATV & TLG*

The MATV protocol from LIFEx was used [26]. Each lesion was completely by-passed by an adapted VOI by hand then a threshold of 41% of  $SUV_{max}$  was applied as recommended by the EANM for solid tumours [19]. Thus, each MATV & TLG ( $TLG = SUV_{mean} \times MATV$ ) per lesion was summed to obtain WB-MATV & WB-TLG. Any sign

of potential immune infiltrate organs was excluded. Fig. 1 displays the methodology for MATV computation and immune organs evaluation.

### *Evaluation of PET response*

Tumour response was assessed at 3 and 6 months. Recent immunotherapy-modified PERCIST using 5 lesions, imPERCIST5, was used [7].

Briefly, the recommendations of PERCIST5 were followed: up to 5 hottest target lesions were recorded to be summed (maximum of two per organ). The appearance of new lesions alone did not result in progressive metabolic disease (PMD), only an increase of the sum of  $SUL_{peak}$  by 30% was considered as PMD, with or without new lesions. Response to immunotherapy was classified as complete metabolic response (CMR), partial metabolic response (PMR), stable metabolic disease (SMD) or PMD. The responders concerned the patients classified as CMR or PMR and non-responders as SMD and PMD, as follows.

- CMR: complete resolution of  $^{18}F$ -FDG uptake in the tumour volume, with tumour uptake lower than liver SUL and background blood pool, and disappearance of all lesions if multiple.
- PMR: at least 30% reduction in tumour uptake.
- SMD: less than 30% increase, or less than 30 decrease in tumour uptake
- PMD: greater than 30% increase in tumour uptake.

### **Biological biomarkers**

The values of LDH (normal value 100-190 UI/L), reactive protein C (CRP, normal value <10mg/L), white blood count (WBC, normal value 4000-10000/mm<sup>3</sup>), absolute neutrophils count (ANC, normal value 1500-7000 /mm<sup>3</sup>), and ALC (normal value 1500-

4000/mm<sup>3</sup>) were recorded. Each value comes from the biological assessment done systematically in approved laboratories 48 to 72 hours before immunotherapy. Methods may differ depending on the laboratory.

The NLR and the derived neutrophils to lymphocytes ratio (dNLR) were calculated as follows:

$$NLR = ANC / ALC$$

$$dNLR = ANC / (WBC - ALC)$$

### **Statistical analysis**

Quantitative variables are presented as mean (SD).

To assess the inter-observer reproducibility and compare all PET quantitative measurements made by the two observers, intraclass correlation coefficients, Bland-Altman analyses as well as non-parametric Wilcoxon tests were used.

For the identification of PET and biological variables of interest to determine the 1-year OS status of patients, a univariable analysis by means of non-parametric Mann-Whitney test was used to compare quantitative variables of patients alive at 1 year (1y-OS 0 patients) and patients dead at 1 year (1y-OS 1 patients). For qualitative variable, Fischer exact tests were used. The landmarked specific overall survival (OS) was defined as the time from the first immunotherapy cycle to death from melanoma. The correlations between PET and biological variables of interest were studied using Spearman correlations. Afterward, ROC analyses were used to determine their optimal cut-off to discriminate between 1y-OS 0 and 1y-OS 1 patients based on the optimisation of the Youden index and 1y-OS analyses were performed using

univariable Kaplan-Meier survival analyses with log-rank test to compare survival curves.

The evolution biological and PET variables of interest during immunotherapy from baseline to M3PET were assessed using Friedman tests. A post hoc test was performed with the two-stage linear step-up procedure of Benjamini, Krieger and Yekutieli test for multiple comparisons.

To confront the importance of biological PET variables in the prediction of the 1y-OS status, a multivariable random forests prediction model was used incorporating all PET and biological variables previously identified. The importance of each PET variable in the classification process was determined by the measurement of its mean decrease accuracy of class prediction. The method implemented classification and regression trees (CART,  $n = 100$ ) and bootstrapping aggregating (bagging) method proposed by Breiman [27]. Moreover, a CHAIN algorithm classification tree was performed with a maximum tree depth set to 3 to avoid a too complex tree.

For all statistical tests, a two-tailed P value of less than 0.05 was considered statistically significant. Graphs and statistical analysis were performed on XLSTAT Software (XLSTAT 2017: Data Analysis and Solution for Microsoft Excel, Addinsoft, Paris, France (2017)).

## **RESULTS**

### **Population characteristics**

Twenty-nine patients were included. Baseline patients' characteristics are displayed in table 1. Fifteen patients (51.7%) had more than 2 metastatic sites. BRAF<sup>V600</sup> mutation was found in 11 patients (38.0%), RAS mutation in 3 patients (10.3%) and NRAS mutation in 4 patients (13.8%). No KRAS mutation was observed. The median follow-

up was 16.6 months and the 1y-OS was 65.5 % in the entire population. There were 10 recorded events in the entire population over the first year of follow-up. Only one patient was lost to follow-up at 6.4 months.

### **Comparison and assessment of reproducibility of PET measured by the two observers**

ICC values for all explored variables were displayed in table 2. Strong reproducibilities (ICC > 0.90) were observed for spleen anterior SUV<sub>peak</sub>, spleen MV, spleen TLG, spleen length and BLR<sub>mean</sub>. Focusing on SLR, best performance was observed using mean values with an ICC equal to 0.86 as compared to 0.66 using maximum values. In the same trend although ileocecal valve SUVs ICC performances appeared lower, judged as moderate, better results were observed using SUV<sub>mean</sub> values. Bland-Altman analyses of these seven PET variables, performed on all time points mixed together, are displayed on Figure 2. Largest bias and 95%CI were observed for ileocecal valve SUV<sub>mean</sub> (7.45, 95%CI=64.81-49.9) and BLR<sub>mean</sub> (2.59, 95%CI=25.47-20.29). Moreover, Wilcoxon tests found that anterior spleen SUV<sub>peak</sub> values and ileocecal valve SUV<sub>mean</sub> values were significantly different between observers: Obs1=1.9 versus Obs2=1.89 (p=0.02) and Obs1=1.53 versus Obs2=1.35 (p<0.001), respectively. Descriptive analysis for others variables can be found in supplemental Table 1. Overall, the more robust signs of immune activation were therefore SLR<sub>mean</sub>, spleen MV and TLG, spleen length and BLR<sub>mean</sub>.

### **Identification of PET variables of interest to predict the 1-year OS status**

#### *Evaluation of immune activation*

Concerning quantitative PET variables, interim %var splenic length, M3%var SLR<sub>mean</sub> and M3%var ileocecal valve SUV<sub>mean</sub> were found to be significantly different between 1y-OS 0 and 1y-OS 1 patients. Interim %var splenic length was significantly lower in 1y-OS 1 patients [-3.1 (14.3) versus 15.9 (31.4); p=0.01] whereas M3%var SLR<sub>mean</sub> and M3%var ileocecal valve SUV<sub>mean</sub> were higher in 1y-OS 1 patients: -19.1 (24.4) versus 3.4 (14.3); p=0.03 and 2.38 (26.85) versus 106.91 (159.24); p=0.03, respectively.

#### *Evaluation of MATV & TLG*

Characteristics of all quantitative PET variables as well as Mann-Whitney results between 1y-OS 0 and 1y-OS 1 patients can be found in table 3. Of note baseline WB-MATV almost reached significance with a p value equal to 0.06 with values seemingly higher in 1y-OS 1 patients: 37.23 (55.08) versus 79.9 (78.5).

#### *Correlation with biological biomarkers*

The exploration of correlations between PET variables of interest and all biological variables (Fig. 3) found that SLR<sub>mean</sub> was positively correlated to M3%var LDH ( $\rho=0.533$ . p=0.005) and negatively correlated to M3%var ALC ( $\rho=-0.415$ . p=0.035). Of note, there were also significant positive correlations of M3%var SLR<sub>mean</sub> with M3%var WB-MATV ( $\rho=0.382$ . p=0.049) and with M3%var BLR ( $\rho=0.610$ . p=0.001).

#### *Evaluation of PET response*

Concerning qualitative variables, Fischer tests showed that 1y-OS 1 patients were mostly patients classified as non-responders on M6PET (p=0.027) but no significant relationship with imPERCIST M3PET response classification was found (p=0.098).

### *Occurrence of irAEs*

Overall, thirty-three patients displayed irAEs (44.8%) mostly on iPET (61.5%). Endocrine and digestive systems were the most affected. Overall, 5 colitis, 4 thyroiditis, 3 gastritis, 3 enthesopathies, 2 hypophysitis and 2 myositis were observed, all time point considered. Five patients had multiple irAEs ( $\geq 2$ ). There was no treatment interruption and only 4 patients received immunosuppressants (30.8%) with long-term corticosteroid therapy (n=3) or cyclosporine (n=1). No relation between patient's outcome and i-irAEs, M3-irAEs or long-term use of corticosteroid was found with p value equal to 0.201, 0.398 and 0.128, respectively.

### **Exploration of established biological variables of interest**

Mean (SD) time (days) between biological samples and PET baseline, iPET, M3-PET and M6-PET was 18 (18), 5 (4), 4 (3) and 5 (5), respectively.

Baseline LDH values were higher in 1y-OS 1 patients [272.8 (84.3) versus 226.1 (85.1);  $p=0.04$ ] as well as i%var NLR [98.7 (100.9) versus 29.5 (56.5);  $p=0.049$ ]. Other biological variables were not significantly different between 1y-OS 0 and 1y-OS 1 patients (Table 3).

The exploration of correlations between biological variables of interest and all PET variables found a single significant positive correlation between baseline LDH and baseline WB MATV ( $\rho=0.445$ .  $p = 0.01$ ) (Fig. 3).

Fig. 4b shows the evolution of the main biology data. In 1y-OS 1 patients, a significative increase of NLR was found at M6-PET vs baseline PET ( $p = 0.03$ ).

### **Change in imaging biomarkers across the treatment sequence**

The evolution of PET variables according to 1y-OS are displayed in Fig. 4a. In the 1y-OS 1 group, from baseline,  $SLR_{mean}$  tended to increase at each time point to achieve a significant difference at M6-PET ( $p = 0.019$ ). The same trends were observed with spleen  $SUV_{peak}$  anterior and spleen length. In the 1y-OS 0 group, a significant increase of spleen length was found at iPET, as compared to baseline PET ( $p = 0.014$ ) and M3-PET ( $p = 0.0239$ ).

## **Survival analysis**

### *Prediction of survival status at 12 months*

Interim %var spleen length, M3%var  $SLR_{mean}$ , M3%var  $SUV_{mean}$  ileocecal valve, baseline LDH and i%var NLR ROC analyses were all statistically significant and showed that optimal cut-off values to predict an event were <5%, >25%, >47%, > 196 UI/L and >35%, respectively. The variable displaying the best performance was i%var spleen length: area under the curve = 0.800, sensitivity = 80.0%, specificity = 84.2%, accuracy = 82.8% ( $p=0.001$ ). All ROC analyses results can be found in Table 4. Of note, an extra-ROC analysis was conducted on baseline WB-MATV and was found to be significant (AUC=0.718.  $p=0.026$ ). With an optimal cut-off value > 29cc, sensitivity was equal to 70.0%. specificity to 73.7% and accuracy to 72.4%.

### *Kaplan Meier survival analysis*

Univariable Kaplan-Meier survival analyses were run using these previously described cut-off values and found that i%var spleen length, M3%var  $SLR_{mean}$ , baseline LDH and i%var NLR were all predictors of 1y-OS. Kaplan-Meier curves for all variables are shown on Fig. 5. The parameter that seemed the most discriminant between 1y-OS 0 and 1y-OS 1 patients was M3%var  $SLR_{mean}$ . Patients with high M3%var  $SLR_{mean}$



(>25%) had a 1y-OS of 0% whereas patients with low M3%var SLR<sub>mean</sub> (≤25%) had a 1y-OS of 85.9% (p<0.0001). Moreover, M6-PET imPERCIST response was also predictive of 1y-OS with poorer prognostic in patients classified as non-responders on M6-PET. Of note, the same analysis conducted on baseline MATV was also significant with poorer 1y-OS observed in patients displaying the highest values (>29cc): 41.15% versus 80% (p=0.018).

#### *Random forest prediction model*

The multivariable random forests prediction model including i%var spleen length, M3%var SLR<sub>mean</sub>, M3%var SUV<sub>mean</sub> ileocecal valve, baseline LDH, i%var NLR and M6-PET response showed that the variable displaying the highest importance expressed as mean decrease accuracy was M3%var SLR<sub>mean</sub> followed by M3%var SUV<sub>mean</sub> ileocecal valve. Respective mean decrease accuracies were 5.34, 8.54, 6.71, 4.65, -1.92 and 2.51. Moreover, a CHAID classification tree including all previously mentioned PET and biological variables of interest found that 96.3% of patients were well-classified when using first M3%var SLR<sub>mean</sub> >25% and then ileocecal valve M3%var SUV<sub>mean</sub> >47% as criteria of classification. Only one 1y-OS 1 patient was misclassified. The representative case of a well-classified patient can be seen in supplemental figure 1.

## **DISCUSSION**

ICIs have transformed the management and the prognostic of patients with metastatic melanoma. However, some of them developed resistance to ICIs [2] and the majority is still refractory [28]. Therefore, achieving a gain in survival while also accounting for

health economics implications [29], requires biomarkers to predict the outcome of ICIs treatment. Amongst these potential biomarkers are PET metrics, which can be split into three categories: PET response criteria adapted to ICIs in order to account for pseudo-progression patterns, MATV and signs of immune activation.

To the best of our knowledge, this study is the first to report Inter-observer variability in a wide range of signs of immune activation on  $^{18}\text{F}$ -FDG PET. Strong reproducibility was observed for spleen and bone marrow measurements and showed that the SUV<sub>mean</sub> metric should be preferred. Ileocecal valve SUVs performances appeared lower, with ICCs judged as moderate. In addition to harbouring a low inter-observer variability, computation of signs of immune activation have to be user-friendly if one wants to use them for daily routine in busy PET centres. Therefore, despite an excellent ICC, spleen MV and TLG are unlikely to be adopted. Overall, SLR, BLR and spleen length appear the most suitable.

While understanding the baseline host anti-tumour immune response on baseline scan is important, its evolution under treatment has not yet been studied. Our study focused on the longitudinal evolution of several potential biomarkers extracted from  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT imaging, at baseline, after the 2 first injections of ICIs, and after 3 and 6 months of treatment.

The main finding of our study is that M3%var SLR<sub>mean</sub> was higher in patients who died during the first year of treatment, and was the variable displaying the highest importance in a multivariable random forests prediction model including PET and biological variables significantly different in survivors and non-survivors on univariable analysis (i%var spleen length, M3%var SLR<sub>mean</sub>, M3%var SUV<sub>mean</sub> ileocecal valve, baseline LDH, i%var NLR and M6-PET response). While the attention of the PET community has been mainly focused on the capability of SLR to predict immune

activation [13, 30] (an increased spleen uptake being considered to reflect “unleashed” T lymphocytes with an expected better outcome), several findings of our study show that the detrimental increase in SLR on M3PET may be related to inflammation. The spleen, being the largest lymphoid organ in the human body, is the site of immune cell activation and maturation [31]. The mechanism for high splenic avidity is not well understood but high splenic uptake or high SLR has been observed in patients with infections, granulomatous diseases as well as patients with cancers associated with an inflammatory state such as Hodgkin’s lymphoma [16, 32-37]. Increased splenic avidity was also reported in GCSF injections and in the post chemotherapy period [38]. In our study SLR correlated well with the evolution of tumour burden WB-MATV at M3 and displayed a negative correlation with ALC at the same time point, known to be correlated with inflammation (Fig. 4).

Immune inflammatory cells can be actively tumour promoting and be associated with tumour aggressiveness and immune suppression, resulting in failure of T cells to protect from cancer [39]. Inflammation promotes tumour through many mechanisms [40]. Currently, it is suggested that myeloid derived suppressor cells (MDSCs) and maybe other inflammatory processes which induce expression on MDSCs, could lead to a resistance to ICIs. MDSCs is a heterogeneity population of cells [41] and could explain the increase of SLR. A major mechanism recently discovered is that inflammation induces the production of MDSCs which inhibit both adaptive and innate immunity to suppress T cells, leading to ICIs failure [41]. MDSCs accumulated in blood, bone marrow lymph nodes, spleen and tumour sites. Preclinical studies have shown that MDSCs represent up to 20% of splenocytes in cancer disease vs 3% in healthy mice [42].

Also important as a prognosticator was M3%var ileocecal valve  $SUV_{mean}$ , with a CHAID classification tree including PET and biological variables of interest demonstrating that 96.3% of patients were well-classified when using first M3%var  $SLR_{mean} >25\%$  and then M3%var ileocecal valve  $SUV_{mean} >47\%$  as criteria of classification.

In addition to signs of immune activation and conventional or ICI-adapted PET response criteria, the third piece of information assessable on PET imaging is the occurrence of irAEs. While several studies have shown that patients experiencing irAEs may have better survival [43], studies on PET irAEs are scarce [45, 46]. Recently Iravani et al showed in melanoma patients receiving a combination of two ICIs that  $^{18}F$ -FDG PET/CT often could detect relevant irAEs which may precede clinical diagnosis [47]. According to our study, most of irAEs appeared early in the course of treatment but were not found to predict 1y-OS.

This warrants validation of %varSLR as a prognosticator with prospective studies or larger series by pooling our EARL-compliant data with those of other EARL-accredited PET centres.

Our study has several limitations. First, its retrospective nature and its relatively small sample size, except for the reproducibility study where 14 variables involving immune organs were studied at 3 time points. Secondly, we did not use time-dependent ROC curves [48]. Thirdly, a random forest method was used on a small amount of data and including multiple variables. Given the risk of over fitting, these results should be considered as a proof of concept requiring prospective evaluation.

## CONCLUSION

Based on its good reproducibility and practicality,  $SLR_{mean}$  is recommended as a prognosticator in melanoma patients under immunotherapy: its increase greater than 25% at 3 months, compared to baseline, was associated with poor outcome after ICIs. This study provides a proof of concept concerning this parameter and warrants prospective evaluation.

## REFERENCES

1. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *The New England journal of medicine*. 2010;363:711-23. doi:10.1056/NEJMoa1003466.
2. Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *The New England journal of medicine*. 2015;372:2521-32. doi:10.1056/NEJMoa1503093.
3. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*. 2016;387:1540-50. doi:10.1016/s0140-6736(15)01281-7.
4. Tomita M, Yasui H, Higashikawa K, Nakajima K, Takakura H, Shiga T, et al. Anti PD-1 treatment increases [(18)F]FDG uptake by cancer cells in a mouse B16F10 melanoma model. *EJNMMI research*. 2018;8:82. doi:10.1186/s13550-018-0433-1.
5. Sachpekidis C, Larribere L, Pan L, Haberkorn U, Dimitrakopoulou-Strauss A, Hassel JC. Predictive value of early 18F-FDG PET/CT studies for treatment response evaluation to ipilimumab in metastatic melanoma: preliminary results of an ongoing study. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2015;42:386-96. doi:10.1007/s00259-014-2944-y.
6. Hodi FS, Hwu WJ, Kefford R, Weber JS, Daud A, Hamid O, et al. Evaluation of Immune-Related Response Criteria and RECIST v1.1 in Patients With Advanced Melanoma Treated With Pembrolizumab. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2016;34:1510-7. doi:10.1200/jco.2015.64.0391.
7. Ito K, Teng R, Schoder H, Humm JL, Ni A, Michaud L, et al. (18)F-FDG PET/CT for Monitoring of Ipilimumab Therapy in Patients with Metastatic Melanoma. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2019;60:335-41. doi:10.2967/jnumed.118.213652.
8. Seban RD, Moya-Plana A, Antonios L, Yeh R, Marabelle A, Deutsch E, et al. Prognostic 18F-FDG PET biomarkers in metastatic mucosal and cutaneous melanoma treated with immune checkpoint inhibitors targeting PD-1 and CTLA-4. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020. doi:10.1007/s00259-020-04757-3.
9. Ayati N, Sadeghi R, Kiamanesh Z, Lee ST, Zakavi SR, Scott AM. The value of (18)F-FDG PET/CT for predicting or monitoring immunotherapy response in patients with metastatic melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2020. doi:10.1007/s00259-020-04967-9.

10. Kolinger GD, Vallez Garcia D, Kramer GM, Frings V, Smit EF, de Langen AJ, et al. Repeatability of [(18)F]FDG PET/CT total metabolic active tumour volume and total tumour burden in NSCLC patients. *EJNMMI research*. 2019;9:14. doi:10.1186/s13550-019-0481-1.
11. Lodge MA. Repeatability of SUV in Oncologic (18)F-FDG PET. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2017;58:523-32. doi:10.2967/jnumed.116.186353.
12. Yeh R, Trager MH, Rizk EM, Finkel GG, Barker LW, Carvajal RD, et al. FLT-PET At 6 Weeks Predicts Response Assessed by CT at 12 Weeks in Melanoma Patients Treated With Pembrolizumab. *Clin Nucl Med*. 2020;45:267-75. doi:10.1097/rlu.0000000000002967.
13. Aide N, Hicks RJ, Le Tourneau C, Lheureux S, Fanti S, Lopci E. FDG PET/CT for assessing tumour response to immunotherapy : Report on the EANM symposium on immune modulation and recent review of the literature. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2019;46:238-50. doi:10.1007/s00259-018-4171-4.
14. Wong A, Callahan J, Keyaerts M, Neyns B, Mangana J, Aberle S, et al. (18)F-FDG PET/CT based spleen to liver ratio associates with clinical outcome to ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer imaging : the official publication of the International Cancer Imaging Society*. 2020;20:36. doi:10.1186/s40644-020-00313-2.
15. Seban RD, Nemer JS, Marabelle A, Yeh R, Deutsch E, Ammari S, et al. Prognostic and theranostic 18F-FDG PET biomarkers for anti-PD1 immunotherapy in metastatic melanoma: association with outcome and transcriptomics. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2019;46:2298-310. doi:10.1007/s00259-019-04411-7.
16. Dercle L, Seban RD, Lazarovici J, Schwartz LH, Houot R, Ammari S, et al. (18)F-FDG PET and CT Scans Detect New Imaging Patterns of Response and Progression in Patients with Hodgkin Lymphoma Treated by Anti-Programmed Death 1 Immune Checkpoint Inhibitor. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2018;59:15-24. doi:10.2967/jnumed.117.193011.
17. Capone M, Giannarelli D, Mallardo D, Madonna G, Festino L, Grimaldi AM, et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and derived NLR could predict overall survival in patients with advanced melanoma treated with nivolumab. *Journal for immunotherapy of cancer*. 2018;6:74. doi:10.1186/s40425-018-0383-1.
18. Wagner NB, Forschner A, Leiter U, Garbe C, Eigentler TK. S100B and LDH as early prognostic markers for response and overall survival in melanoma patients treated with anti-PD-1 or combined anti-PD-1 plus anti-CTLA-4 antibodies. *British journal of cancer*. 2018;119:339-46. doi:10.1038/s41416-018-0167-x.
19. Boellaard R, Delgado-Bolton R, Oyen WJ, Giammarile F, Tatsch K, Eschner W, et al. FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2015;42:328-54. doi:10.1007/s00259-014-2961-x.
20. Aide N, Lasnon C, Veit-Haibach P, Sera T, Sattler B, Boellaard R. EANM/EARL harmonization strategies in PET quantification: from daily practice to multicentre oncological studies. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2017;44:17-31. doi:10.1007/s00259-017-3740-2.
21. Nioche C, Orhac F, Boughdad S, Reuzé S, Goya-Outi J, Robert C, et al. LIFEx: A Freeware for Radiomic Feature Calculation in Multimodality Imaging to Accelerate Advances in the Characterization of Tumor Heterogeneity. *Cancer research*. 2018;78:4786-9. doi:10.1158/0008-5472.Can-18-0125.
22. Bezerra AS, D'Ippolito G, Faintuch S, Szejnfeld J, Ahmed M. Determination of splenomegaly by CT: is there a place for a single measurement? *AJR American journal of roentgenology*. 2005;184:1510-3. doi:10.2214/ajr.184.5.01841510.
23. Mekki A, Dercle L, Lichtenstein P, Marabelle A, Michot JM, Lambotte O, et al. Detection of immune-related adverse events by medical imaging in patients treated with anti-programmed cell death 1. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2018;96:91-104. doi:10.1016/j.ejca.2018.03.006.
24. Mekki A, Dercle L, Lichtenstein P, Nasser G, Marabelle A, Champiat S, et al. Machine learning defined diagnostic criteria for differentiating pituitary metastasis from autoimmune

- hypophysitis in patients undergoing immune checkpoint blockade therapy. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2019;119:44-56. doi:10.1016/j.ejca.2019.06.020.
25. Prigent K, Aide N. (18)F-Fludeoxyglucose PET/Computed Tomography for Assessing Tumor Response to Immunotherapy and Detecting Immune-Related Side Effects: A Checklist for the PET Reader. *PET clinics*. 2020;15:1-10. doi:10.1016/j.cpet.2019.08.006.
  26. Barrington SF, Meignan M. Time to Prepare for Risk Adaptation in Lymphoma by Standardizing Measurement of Metabolic Tumor Burden. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*. 2019;60:1096-102. doi:10.2967/jnumed.119.227249.
  27. Breiman L. *Random Forests*.
  28. Zhao X, Subramanian S. Intrinsic Resistance of Solid Tumors to Immune Checkpoint Blockade Therapy. *Cancer research*. 2017;77:817-22. doi:10.1158/0008-5472.Can-16-2379.
  29. Tartari F, Santoni M, Burattini L, Mazzanti P, Onofri A, Berardi R. Economic sustainability of anti-PD-1 agents nivolumab and pembrolizumab in cancer patients: Recent insights and future challenges. *Cancer treatment reviews*. 2016;48:20-4. doi:10.1016/j.ctrv.2016.06.002.
  30. Wong ANM, McArthur GA, Hofman MS, Hicks RJ. The Advantages and Challenges of Using FDG PET/CT for Response Assessment in Melanoma in the Era of Targeted Agents and Immunotherapy. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2017;44:67-77. doi:10.1007/s00259-017-3691-7.
  31. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. *Nature reviews Immunology*. 2005;5:606-16. doi:10.1038/nri1669.
  32. Salaun PY, Gastinne T, Bodet-Milin C, Campion L, Cambefort P, Moreau A, et al. Analysis of 18F-FDG PET diffuse bone marrow uptake and splenic uptake in staging of Hodgkin's lymphoma: a reflection of disease infiltration or just inflammation? *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2009;36:1813-21. doi:10.1007/s00259-009-1183-0.
  33. Chen A, Mokrane FZ, Schwartz LH, Morschhauser F, Stamatoullas A, Schiano de Colella JM, et al. Early (18)F-FDG PET/CT Response Predicts Survival in Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma Treated with Nivolumab. *J Nucl Med*. 2020;61:649-54. doi:10.2967/jnumed.119.232827.
  34. Mokrane FZ, Chen A, Schwartz LH, Morschhauser F, Stamatoullas A, Schiano de Colella JM, et al. Performance of CT Compared with (18)F-FDG PET in Predicting the Efficacy of Nivolumab in Relapsed or Refractory Hodgkin Lymphoma. *Radiology*. 2020;295:651-61. doi:10.1148/radiol.2020192056.
  35. Derclé L, Ammari S, Seban RD, Schwartz LH, Houot R, Labaied N, et al. Kinetics and nadir of responses to immune checkpoint blockade by anti-PD1 in patients with classical Hodgkin lymphoma. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2018;91:136-44. doi:10.1016/j.ejca.2017.12.015.
  36. Derclé L, Mokrane FZ, Schiano de Colella JM, Stamatoullas A, Morschhauser F, Brice P, et al. Unconventional immune-related phenomena observed using 18F-FDG PET/CT in Hodgkin lymphoma treated with anti PD-1 monoclonal antibodies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2019;46:1391-2. doi:10.1007/s00259-019-04310-x.
  37. Kim SY, Moon CM, Yoon HJ, Kim BS, Lim JY, Kim TO, et al. Diffuse splenic FDG uptake is predictive of clinical outcomes in patients with rectal cancer. *Scientific reports*. 2019;9:1313. doi:10.1038/s41598-018-35912-4.
  38. Oliveira M, Lasnon C, Nganoa C, Gac AC, Damaj G, Aide N. Comprehensive analysis of the influence of G-CSF on the biodistribution of (18)F-FDG in lymphoma patients: insights for PET/CT scheduling. *EJNMMI research*. 2019;9:79. doi:10.1186/s13550-019-0546-1.
  39. Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, Buck MD, Noguchi T, Curtis JD, et al. Metabolic Competition in the Tumor Microenvironment Is a Driver of Cancer Progression. *Cell*. 2015;162:1229-41. doi:10.1016/j.cell.2015.08.016.
  40. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646-74. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013.

41. Ostrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2009;182:4499-506. doi:10.4049/jimmunol.0802740.
42. Jordan KR, Kapoor P, Spongberg E, Tobin RP, Gao D, Borges VF, et al. Immunosuppressive myeloid-derived suppressor cells are increased in splenocytes from cancer patients. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*. 2017;66:503-13. doi:10.1007/s00262-016-1953-z.
43. Kotwal A, Kottschade L, Ryder M. PD-L1 Inhibitor-Induced Thyroiditis Is Associated with Better Overall Survival in Cancer Patients. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2020;30:177-84. doi:10.1089/thy.2019.0250.
44. Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, Kudo K, Yonesaka K, Kato R, et al. Association of Immune-Related Adverse Events With Nivolumab Efficacy in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JAMA oncology*. 2018;4:374-8. doi:10.1001/jamaoncol.2017.2925.
45. Nobashi T, Baratto L, Reddy SA, Srinivas S, Toriihara A, Hatami N, et al. Predicting Response to Immunotherapy by Evaluating Tumors, Lymphoid Cell-Rich Organs, and Immune-Related Adverse Events Using FDG-PET/CT. *Clinical nuclear medicine*. 2019;44:e272-e9. doi:10.1097/rlu.0000000000002453.
46. Wachsmann JW, Ganti R, Peng F. Immune-mediated Disease in Ipilimumab Immunotherapy of Melanoma with FDG PET-CT. *Academic radiology*. 2017;24:111-5. doi:10.1016/j.acra.2016.08.005.
47. Iravani A, Osman MM, Wepler AM, Wallace R, Galligan A, Lasocki A, et al. FDG PET/CT for tumoral and systemic immune response monitoring of advanced melanoma during first-line combination ipilimumab and nivolumab treatment. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*. 2020. doi:10.1007/s00259-020-04815-w.
48. Kamarudin AN, Cox T, Kolamunnage-Dona R. Time-dependent ROC curve analysis in medical research: current methods and applications. *BMC medical research methodology*. 2017;17:53. doi:10.1186/s12874-017-0332-6.



## VII. Discussion

L'exploration des mécanismes qui sous-tendent la tumorigenèse humaine a connu un développement conceptuel extrêmement important durant ces deux dernières décennies. *Hanahan et Weinberg*, en 2000 puis en 2011, ont répertorié les caractéristiques nécessaires au développement d'un cancer, présentées comme une tentative de rationalisation des principes organisateurs de la maladie néoplasique (18). Ils énumèrent notamment : l'autosuffisance aux signaux de prolifération, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de prolifération, l'échappement de l'immunité antitumorale, l'échappement à la mort cellulaire. Ces éléments induisent un potentiel réplicatif illimité et la stimulation de l'angiogenèse, ils activent la migration des cellules tumorales et l'invasion métastatique (Figure 1, tiré de *Hanahan et al, Cell 2011*). A la base de ces propriétés, les auteurs recensent également l'instabilité génomique et l'inflammation qui jouent un rôle prépondérant sur plusieurs de ces « hallmarks ».

Dans notre étude, les patients décédés à un an présentaient effectivement plusieurs stigmates liés à l'inflammation : la variation supérieure à 25 % du  $SLR_{mean}$  entre baseline et M3, et la variation supérieure à 35% du NLR entre baseline et intérim.

En revanche notre cohorte n'a pas identifié de taux moyen de lymphocytes ou de neutrophiles significativement différents à baseline interim ou M3 entre les 1 Y-OS 1 et 1 Y-OS 0. Néanmoins, le NLR nous montre que les patients décédés à 1 an avaient significativement tendance à connaître à la fois une diminution des lymphocytes et une augmentation des neutrophiles à la TEP intérim.

Cette lymphopénie est fréquente chez les patients ayant un cancer, même en dehors de tout traitement. Elle est observée dans 20% des patients avec une maladie avancée et 3% sur les maladies localisées, dont le mélanome (67).

Chez les patients métastatiques, elle peut être due à de multiples mécanismes :

- La destruction des lymphocytes induite par les cellules tumorales exprimant des ligands pro-apoptotiques (FAS-L),
- La réduction de la capacité des lymphocytes à répondre à la stimulation TCR due à une expression altérée de la chaîne zêta,
- La proportion des Treg exprimant le CTLA4 favorisant l'immunosuppression ou l'activation de la mort cellulaire (67).

Plusieurs études se sont attachées à connaître le rôle pronostique de la lymphopénie.

Dans l'étude de Martens *et al*, l'augmentation du nombre absolu de lymphocytes 2 à 8 semaines après la première injection d'Ipilimumab chez des patients ayant un mélanome métastatique, a été rapporté comme un possible biomarqueur reflétant la bonne réponse au traitement (68). Pour plusieurs auteurs, son impact serait aussi bien négatif à baseline que per-immunothérapie (69,70).

En ce qui concerne l'infiltration leucocytaire intra-tumorale, les constatations sont les mêmes. Les cellules qui composent les microenvironnements tumoraux sont multiples et hétérogènes, mais comptent plus ou moins toujours un même pattern cellulaire. Il est maintenant admis que les cellules immunitaires y jouent un rôle fondamental. On les retrouve dans des proportions variables, et leurs fonctions peuvent être opposées. Elles peuvent jouer un rôle anti-tumoral ou pro-tumoral, de manière mutuellement exclusive (18). Par conséquent le nombre absolu des lymphocytes intra-tumoraux n'est pas représentatif de la réponse anti-tumorale.

Cela étant dit, la balance entre les leucocytes pro ou anti-tumoraux permet de dégager schématiquement plusieurs types de tumeurs : les tumeurs « chaudes », ayant une forte proportion de LT anti-tumoraux, et les tumeurs « froides », dont le

microenvironnement est plus immunosuppresseur. Naturellement, il existe entre ces deux entités un continuum de patterns différents, qui peuvent évoluer dans le temps.

Le concept distinguant les tumeurs « chaudes », « froides » ou « intermédiaires » vient du développement de l'immunoscore dans les cancers du côlon. La densité cellulaire des lymphocytes CD3 ou CD8+, et sa répartition au cœur de la tumeur ou dans ses marges permet une classification pronostique bien meilleure que le système clinico-histologique TNM du cancer du côlon. En d'autres termes, l'interprétation du contexte immunitaire tumoral (type cellulaire, phénotype lymphocytaire, densité, distribution) permet de prédire l'évolution de la maladie.

La polarisation de ces différents effecteurs pro- ou anti-tumoraux est en partie due au contexte cytokinique du lit tumoral.

Les signaux moléculaires présents dans le micro-environnement sélectionnent le phénotype du LT activé en Th1, Th2 ou Th17. Le sous-type Th1 produit de l'IL2 et de l'interféron gamma, permettant *de facto* l'activation des LT cytotoxiques, des NK et des macrophages. Les sous-types Th2 et Th17 promeuvent la progression tumorale en induisant une inflammation chronique par une production cytokinique (respectivement IL 4, IL5, IL13, et IL17) et une réponse humorale médiée par des LB (71).

L'inflammation chronique qu'engendre la tumeur favorise la progression en stimulant la prolifération cellulaire (facteurs de croissances EGF, « *epidermal growth factor* »), la transition épithélio-mésenchymateuse, l'angiogenèse (VEGF, « *vascular endothelial growth factor* », ou d'autres facteurs proangiogéniques), le recrutement de Treg et de cellules myéloïdes suppressives (CCL2 et 5), ou le remodelage de la MEC (métalloprotéinases) (18).

En plus des cellules immunitaires bien différenciées ayant une action pro-tumorale (Treg, mastocytes, macrophages, neutrophiles, LT reg ou LB), une variété hétérogène de progéniteurs myéloïdes « intermédiaires » partiellement différenciés ont été identifiés dans les niches métastatiques. Ces cellules myéloïdes suppressives (MDSC) ont la particularité d'inhiber l'activité des lymphocytes NK et des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques. Les MDSC sont fortement amplifiées dans certains cancers, conséquence d'une altération de la différenciation hématopoïétique (72).

Dans la littérature, chez les patients atteints d'un mélanome sous Ipilimumab, l'augmentation précoce des neutrophiles, des monocytes et des MDSC circulants est corrélée à une moins bonne réponse clinique. Chez ces patients non répondeurs, les MDSC produisent significativement plus de monoxyde d'azote et les MDSC granulocytaires expriment plus de PD-L1 par rapport à la baseline et aux répondeurs. Cela les rend donc plus immunosuppresseurs. Dans cette étude, les patients non répondeurs avaient un taux sérique de S100A8/A9 et d'HMGB1, des protéines qui activent et attirent les MDSC, plus important que les patients répondeurs (73). Ces résultats ont été confirmés par l'étude de *De coña et al* qui retrouvait une diminution des MDSC monocytaires et l'augmentation de LT CD8 à long terme, chez des patients traités par de l'Ipilimumab (74).

D'autres travaux encore ont montré que le taux de MDSC monocytaires est inversement corrélé à la réponse clinique, aussi bien sous anti-CTLA4 que sous anti-PD1(74,75).

De nouvelles preuves suggèrent que c'est l'environnement systémique induit par la tumeur (production cytokinique de G-CSF, GM-CSF et M-CSF notamment) qui influence le développement et le phénotype des monocytes (par exemple les MDSC monocytaires), et ce, avant même leur arrivée sur le site de la tumeur (72).

En outre, le cancer est capable non seulement de reprogrammer l'hématopoïèse de la moelle osseuse mais favorise également la myélopoïèse extra médullaire, comme la rate. Cette accumulation de progéniteurs myéloïdes dans la rate entraîne une augmentation du taux de chemokines CCL2, elles-mêmes entraînant une action chimio attractive sur les monocytes, mais aussi sur les lymphocytes (72).

De plus, notre étude rapporte une corrélation positive du  $SLR_{mean}$  avec l'augmentation de la masse tumorale à M3 ( $M3\%var$  LDH et  $M3\%var$  WB-MATV avec respectivement  $\rho=0.533$ ,  $p=0.005$  et  $\rho=0.382$ ,  $p=0.049$ ). Par conséquent, l'augmentation de l'absorption du FDG splénique pourrait être expliquée par l'hypothèse d'une inflammation systémique médiée par la tumeur, responsable d'une myélopoïèse extra-médullaire, et permettrait le recrutement actif des cellules immunosuppressives.

## VIII. Conclusions

Les mécanismes immunitaires et inflammatoires pro-tumoraux ou anti-tumoraux sont en constante balance. L'inflammation locale ou systémique est la pierre angulaire du développement tumoral. Elle est présente à chaque étape : l'initiation, la promotion, l'angiogenèse ou l'envahissement métastatique. Par conséquent, elle est un élément majeur du pronostic de la maladie. Notre étude montre que les variations supérieures à 25% du  $SLR_{mean}$  à trois mois, et supérieures à 35% du NLR à M1 s'avèrent être deux marqueurs importants de l'inflammation et de mauvais pronostic sur la survie à 1 an. L'inversion du ratio hépato splénique pourrait être le reflet hypothétique de l'activation immunitaire, non pas cytotoxique, mais immunosuppressive.

A la lumière de ces résultats et de la recherche florissante sur les voies de signalisation de l'inflammation tumorale, des thérapies ciblant, non pas la cellule tumorale mais des cellules saines immunosuppressives, pourraient être un outil pour espérer rattraper les évolutions métastatiques rapides. Une nouvelle approche plus précoce pourrait également être intéressante à l'avenir, afin de prévenir la maladie métastatique, en combinant différentes cibles du micro-environnement tumoral par des traitements anti-inflammatoires et des drogues tumoricides ou promouvant l'immunité tumorale cytotoxique.

## IX. Bibliographie

1. Damsky WE, Bosenberg M. Melanocytic nevi and melanoma: unraveling a complex relationship. *Oncogene*. 19 2017;36(42):5771-92.
2. Garbe C, Amaral T, Peris K, Hauschild A, Arenberger P, Bastholt L, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 1: Diagnostics - Update 2019. *Eur J Cancer*. févr 2020;126:141-58.
3. SPF. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Tumeurs solides : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim [Internet]. [cité 11 juill 2020]. Disponible sur: /import/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-tumeurs-solides-etude-a-partir
4. Whiteman DC, Green AC, Olsen CM. The Growing Burden of Invasive Melanoma: Projections of Incidence Rates and Numbers of New Cases in Six Susceptible Populations through 2031. *J Invest Dermatol*. juin 2016;136(6):1161-71.
5. Richard MA. Épidémiologie du mélanome et application au dépistage précoce – Melanoma epidemiology: trends and implications for early diagnosis. :5.
6. Legesse TB, Schneider J. Primary cutaneous malignant melanoma in Ethiopian patients histopathologic study of 50 cases from Tikur Anbessa Hospital. *Ethiop Med J*. oct 2011;49(4):313-22.
7. Diomande MI, Effi AB, Honde M, D'Horpoek F, Koffi K, Boka BM, et al. [Malignant melanoma in the Ivory Coast. Epidemiologic and histo-prognostic aspects. Report of 195 cases]. *Clin Exp Pathol*. 1999;47(2):92-5.
8. Gershenwald JE, Scolyer RA. Melanoma Staging: American Joint Committee on Cancer (AJCC) 8th Edition and Beyond. *Ann Surg Oncol*. 1 août 2018;25(8):2105-10.
9. Yang AS, Chapman PB. The History and Future of Chemotherapy for Melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. juin 2009;23(3):583-x.
10. Eggermont AMM, Suci S, Santinami M, Testori A, Kruit WHJ, Marsden J, et al. Adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation alone in resected stage III melanoma: final results of EORTC 18991, a randomised phase III trial. *Lancet*. 12 juill 2008;372(9633):117-26.
11. Eggermont AMM, Suci S, Testori A, Santinami M, Kruit WHJ, Marsden J, et al. Long-term results of the randomized phase III trial EORTC 18991 of adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation in resected stage III melanoma. *J Clin Oncol*. 1 nov 2012;30(31):3810-8.
12. Homet B, Ribas A. New drug targets in metastatic melanoma. *J Pathol*. janv 2014;232(2):134-41.
13. Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 26 août 2010;363(9):809-19.
14. Solit DB, Rosen N. Towards a unified model of RAF inhibitor resistance. *Cancer Discov*. janv 2014;4(1):27-30.

15. Kugel CH, Aplin AE. Adaptive resistance to RAF inhibitors in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* nov 2014;27(6):1032-8.
16. Lovly CM, Shaw AT. Molecular pathways: resistance to kinase inhibitors and implications for therapeutic strategies. *Clin Cancer Res.* 1 mai 2014;20(9):2249-56.
17. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:591-619.
18. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 4 mars 2011;144(5):646-74.
19. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol.* nov 2002;3(11):991-8.
20. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med.* 19 août 2010;363(8):711-23.
21. Robert C, Long GV, Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med.* 22 janv 2015;372(4):320-30.
22. Ugurel S, Röhm J, Ascierto PA, Flaherty KT, Grob JJ, Hauschild A, et al. Survival of patients with advanced metastatic melanoma: The impact of novel therapies. *Eur J Cancer.* janv 2016;53:125-34.
23. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* avr 2015;16(4):375-84.
24. Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu W-J, Kefford R, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med.* 11 juill 2013;369(2):134-44.
25. Robert C, Ribas A, Wolchok JD, Hodi FS, Hamid O, Kefford R, et al. Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial. *Lancet.* 20 sept 2014;384(9948):1109-17.
26. Salaün P-Y, Abgral R, Malard O, Querellou-Lefranc S, Quere G, Wartski M, et al. Good clinical practice recommendations for the use of PET/CT in oncology. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2020;47(1):28-50.
27. 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.* 1 déc 2009;15(23):7412-20.
28. Adashek JJ, Subbiah IM, Matos I, Garralda E, Menta AK, Ganeshan DM, et al. Hyperprogression and Immunotherapy: Fact, Fiction, or Alternative Fact? *Trends in Cancer.* 1 mars 2020;6(3):181-91.



29. Cho SY, Lipson EJ, Im H-J, Rowe SP, Gonzalez EM, Blackford A, et al. Prediction of Response to Immune Checkpoint Inhibitor Therapy Using Early-Time-Point 18F-FDG PET/CT Imaging in Patients with Advanced Melanoma. *J Nucl Med*. sept 2017;58(9):1421-8.
30. Goldfarb L, Duchemann B, Chouahnia K, Zelek L, Soussan M. Monitoring anti-PD-1-based immunotherapy in non-small cell lung cancer with FDG PET: introduction of iPERCIST. *EJNMMI Res*. 29 janv 2019;9(1):8.
31. Anwar H, Sachpekidis C, Winkler J, Kopp-Schneider A, Haberkorn U, Hassel JC, et al. Absolute number of new lesions on 18F-FDG PET/CT is more predictive of clinical response than SUV changes in metastatic melanoma patients receiving ipilimumab. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2018;45(3):376-83.
32. Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *Lancet Oncol*. déc 2016;17(12):e542-51.
33. Ouwerkerk W, van den Berg M, van der Niet S, Limpens J, Luiten RM. Biomarkers, measured during therapy, for response of melanoma patients to immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Melanoma Res*. 2019;29(5):453-64.
34. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Non-squamous Non-small Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 oct 2015;373(17):1627-39.
35. 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*. 21 mai 2015;372(21):2018-28.
36. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med*. 2 juill 2015;373(1):23-34.
37. Mahoney KM, Atkins MB. Prognostic and predictive markers for the new immunotherapies. *Oncology (Williston Park, NY)*. nov 2014;28 Suppl 3:39-48.
38. Huh JW, Lee JH, Kim HR. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg*. avr 2012;147(4):366-72.
39. Thomas NE, Busam KJ, From L, Krickler A, Armstrong BK, Anton-Culver H, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocyte Grade in Primary Melanomas Is Independently Associated With Melanoma-Specific Survival in the Population-Based Genes, Environment and Melanoma Study. *J Clin Oncol*. 20 nov 2013;31(33):4252-9.
40. Zeng D-Q, Yu Y-F, Ou Q-Y, Li X-Y, Zhong R-Z, Xie C-M, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 9 févr 2016;7(12):13765-81.
41. Hamid O, Schmidt H, Nissan A, Ridolfi L, Aamdal S, Hansson J, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med*. 28 nov 2011;9:204.
42. Wu R, Forget M-A, Chacon J, Bernatchez C, Haymaker C, Chen JQ, et al. Adoptive T-cell therapy using autologous tumor-infiltrating lymphocytes for metastatic melanoma: current status and future outlook. *Cancer J*. avr 2012;18(2):160-75.

43. Jurisic V, Radenkovic S, Konjevic G. The Actual Role of LDH as Tumor Marker, Biochemical and Clinical Aspects. *Adv Exp Med Biol.* 2015;867:115-24.
44. Sarnaik AA, Yu B, Yu D, Morelli D, Hall M, Bogle D, et al. Extended dose ipilimumab with a peptide vaccine: immune correlates associated with clinical benefit in patients with resected high-risk stage IIIc/IV melanoma. *Clin Cancer Res.* 15 févr 2011;17(4):896-906.
45. Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi MA, Serrano A, Marchese E, et al. The S100B story: from biomarker to active factor in neural injury. *J Neurochem.* 2019;148(2):168-87.
46. Brouard M, Quillien V, Ollivier I, Lesimple T, Adamski H, Chevrant-Breton J. [Serum S100B protein and stage of cutaneous melanoma: a prospective study]. *Ann Dermatol Venereol.* janv 2000;127(1):56-9.
47. Brochez L, Naeyaert JM. Serological markers for melanoma. *Br J Dermatol.* août 2000;143(2):256-68.
48. Moreira A, Leisgang W, Schuler G, Heinzerling L. Eosinophilic count as a biomarker for prognosis of melanoma patients and its importance in the response to immunotherapy. *Immunotherapy.* 2017;9(2):115-21.
49. Nakamura Y, Kitano S, Takahashi A, Tsutsumida A, Namikawa K, Tanese K, et al. Nivolumab for advanced melanoma: pretreatment prognostic factors and early outcome markers during therapy. *Oncotarget.* 22 nov 2016;7(47):77404-15.
50. Subrahmanyam PB, Dong Z, Gusenleitner D, Giobbie-Hurder A, Severgnini M, Zhou J, et al. Distinct predictive biomarker candidates for response to anti-CTLA-4 and anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *J Immunother Cancer.* 06 2018;6(1):18.
51. Capone M, Giannarelli D, Mallardo D, Madonna G, Festino L, Grimaldi AM, et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and derived NLR could predict overall survival in patients with advanced melanoma treated with nivolumab. *J Immunother Cancer [Internet].* 16 juill 2018 [cité 15 avr 2020];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6048712/>
52. Kanai O, Fujita K, Okamura M, Nakatani K, Mio T. Severe exacerbation or manifestation of primary disease related to nivolumab in non-small-cell lung cancer patients with poor performance status or brain metastases. *Ann Oncol.* 2016;27(7):1354-6.
53. Nosrati A, Tsai KK, Goldinger SM, Tumei P, Grimes B, Loo K, et al. Evaluation of clinicopathological factors in PD-1 response: derivation and validation of a prediction scale for response to PD-1 monotherapy. *Br J Cancer.* 25 avr 2017;116(9):1141-7.
54. Dick J, Lang N, Slynko A, Kopp-Schneider A, Schulz C, Dimitrakopoulou-Strauss A, et al. Use of LDH and autoimmune side effects to predict response to ipilimumab treatment. *Immunotherapy.* 2016;8(9):1033-44.
55. Buder-Bakhaya K, Hassel JC. Biomarkers for Clinical Benefit of Immune Checkpoint Inhibitor Treatment-A Review From the Melanoma Perspective and Beyond. *Front Immunol.* 2018;9:1474.

56. Indini A, Di Guardo L, Cimminiello C, Prisciandaro M, Randon G, De Braud F, et al. Immune-related adverse events correlate with improved survival in patients undergoing anti-PD1 immunotherapy for metastatic melanoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* févr 2019;145(2):511-21.
57. Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD, Topalian SL, Schadendorf D, Larkin J, et al. Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol.* mars 2017;35(7):785-92.
58. Shulgin B, Kosinsky Y, Omelchenko A, Chu L, Mugundu G, Aksenov S, et al. Dose dependence of treatment-related adverse events for immune checkpoint inhibitor therapies: a model-based meta-analysis. *Oncoimmunology.* 21 mai 2020;9(1):1748982.
59. Tumeah PC, Hellmann MD, Hamid O, Tsai KK, Loo KL, Gubens MA, et al. Liver Metastasis and Treatment Outcome with Anti-PD-1 Monoclonal Antibody in Patients with Melanoma and NSCLC. *Cancer Immunol Res.* 2017;5(5):417-24.
60. Weide B, Martens A, Hassel JC, Berking C, Postow MA, Bisschop K, et al. Baseline Biomarkers for Outcome of Melanoma Patients Treated with Pembrolizumab. *Clin Cancer Res.* 15 nov 2016;22(22):5487-96.
61. Aide N, Hicks RJ, Le Tourneau C, Lheureux S, Fanti S, Lopci E. FDG PET/CT for assessing tumour response to immunotherapy : Report on the EANM symposium on immune modulation and recent review of the literature. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* janv 2019;46(1):238-50.
62. Seban R-D, Moya-Plana A, Antonios L, Yeh R, Marabelle A, Deutsch E, et al. Prognostic 18F-FDG PET biomarkers in metastatic mucosal and cutaneous melanoma treated with immune checkpoint inhibitors targeting PD-1 and CTLA-4. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* sept 2020;47(10):2301-12.
63. Zircirkeser S, Sahin E, Halac M, Sager S. Standardized uptake values of normal organs on 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography and computed tomography imaging. *J Int Med Res.* avr 2007;35(2):231-6.
64. Wong A, Callahan J, Keyaerts M, Neyns B, Mangana J, Aberle S, et al. 18F-FDG PET/CT based spleen to liver ratio associates with clinical outcome to ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer Imaging.* 14 mai 2020;20(1):36.
65. Seban R-D, Nemer JS, Marabelle A, Yeh R, Deutsch E, Ammari S, et al. Prognostic and theranostic 18F-FDG PET biomarkers for anti-PD1 immunotherapy in metastatic melanoma: association with outcome and transcriptomics. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* oct 2019;46(11):2298-310.
66. Prigent K, Aide N. 18F-Fludeoxyglucose PET/Computed Tomography for Assessing Tumor Response to Immunotherapy and Detecting Immune-Related Side Effects: A Checklist for the PET Reader. *PET Clin.* janv 2020;15(1):1-10.
67. Ménétrier-Caux C, Ray-Coquard I, Blay J-Y, Caux C. Lymphopenia in Cancer Patients and its Effects on Response to Immunotherapy: an opportunity for combination with Cytokines? *J Immunother Cancer.* 28 2019;7(1):85.
68. Martens A, Wistuba-Hamprecht K, Yuan J, Postow MA, Wong P, Capone M, et al. Increases in Absolute Lymphocytes and Circulating CD4+ and CD8+ T Cells Are Associated with Positive

Clinical Outcome of Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Clin Cancer Res.* 1 oct 2016;22(19):4848-58.

69. Diehl A, Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee E, Grossman SA. Relationships between lymphocyte counts and treatment-related toxicities and clinical responses in patients with solid tumors treated with PD-1 checkpoint inhibitors. *Oncotarget.* 26 déc 2017;8(69):114268-80.
70. Ho WJ, Yarchoan M, Hopkins A, Mehra R, Grossman S, Kang H. Association between pretreatment lymphocyte count and response to PD1 inhibitors in head and neck squamous cell carcinomas. *J Immunother Cancer* [Internet]. 31 août 2018 [cité 9 nov 2020];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117944/>
71. Johansson M, DeNardo DG, Coussens LM. Polarized immune responses differentially regulate cancer development. *Immunol Rev.* avr 2008;222:145-54.
72. Kiss M, Caro AA, Raes G, Laoui D. Systemic Reprogramming of Monocytes in Cancer. *Front Oncol* [Internet]. 17 sept 2020 [cité 11 nov 2020];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7528630/>
73. Gebhardt C, Sevko A, Jiang H, Lichtenberger R, Reith M, Tarnanidis K, et al. Myeloid Cells and Related Chronic Inflammatory Factors as Novel Predictive Markers in Melanoma Treatment with Ipilimumab. *Clin Cancer Res.* 15 déc 2015;21(24):5453-9.
74. de Coaña YP, Wolodarski M, Poschke I, Yoshimoto Y, Yang Y, Nyström M, et al. Ipilimumab treatment decreases monocytic MDSCs and increases CD8 effector memory T cells in long-term survivors with advanced melanoma. *Oncotarget.* 28 mars 2017;8(13):21539-53.
75. Pico de Coaña Y, Wolodarski M, van der Haar Àvila I, Nakajima T, Rentouli S, Lundqvist A, et al. PD-1 checkpoint blockade in advanced melanoma patients: NK cells, monocytic subsets and host PD-L1 expression as predictive biomarker candidates. *Oncoimmunology.* 28 août 2020;9(1):1786888.

## X. Tableaux et figures :

Tableau 1 – Classification AJCC numéro 8 du mélanome.

<b>T</b>	<b>Breslow (mm)</b>	<b>Ulcération</b>
<b>Tx</b>	Non déterminée	
<b>T0</b>	Primitif non retrouvé	
<b>Tis</b>	Mélanome <i>in situ</i>	
<b>T1</b>	≤1,0 < 0,8 < 0,8 0,8 – 1,0	T1 : NC T1A : sans ulcération T1B : avec ulcération T1B : avec ou sans ulcération
<b>T2</b>	> 1,0 – 2,0	T2 : NC T2A : sans ulcération T2B : avec ulcération
<b>T3</b>	> 2,0 – 4	T3 : NC T3A : sans ulcération T3B : avec ulcération
<b>T4</b>	> 4,0	T4 : NC T4A : sans ulcération T4B : avec ulcération
<b>N</b>	<b>Nombre de ganglions métastatiques loco-régionaux</b>	<b>Métastases en transit, satellites ou microsattellites</b>
<b>Nx</b>	Non déterminée	
<b>N0</b>	0	
<b>N1</b>	1 ganglion non détectable cliniquement (sentinelle par exemple) 1 ganglion détectable cliniquement 0 ganglion	N1A : Non N1B : Non N1C : Oui
<b>N2</b>	2 ou 3 ganglions non détectable cliniquement 2 ou 3 ganglions dont ≥1 détectable cliniquement 1 ganglion détectable ou non détectable cliniquement	N2A : Non N2B : Non N2C : Oui
<b>N3</b>	≥4 ganglions non détectable cliniquement ≥4 ganglions dont ≥1 détectable cliniquement ≥2 ganglions détectable ou non cliniquement	N3A : Non N3B : Non N3C : Oui
<b>M</b>	<b>Site métastatique</b>	<b>Taux de LDH</b>
<b>M0</b>	Absence de métastase à distance	
<b>M1A</b>	Métastase cutanée, des tissus mous, ou ganglionnaire à distance	M1 : NC M1A (0) : Normale M1B (1) : Elevé
<b>M1B</b>	Métastase pulmonaire avec ou sans site M1A	M1B : NC M1B (0) : Normal M1B (1) : Elevé
<b>M1C</b>	Métastase viscérale hors SNC avec ou sans site M1A ou B	M1C : NC M1C (0) : Normal M1C (1) : Elevé
<b>M1D</b>	Métastase au SNC avec ou sans site M1A, B ou C	M1D : NC M1D (0) : Normal M1D (1) : Elevé

NC : Non connu, SNC : Système Nerveux Central

**Tableau 2 – Définitions des paramètres semi - quantitatifs utilisés pour le TEP-TDM**

<b>Paramètre</b>	<b>Définition</b>
$SUV_{max}$	Le SUV maximal dans un voxel.
$SUV_{peak}$	Le SUV moyen dans une sphère de $1\text{ cm}^3$
$SUV_{mean}$	Le SUV moyen dans une région tracée manuellement
$SUV_{m40\%}$	Le SUV moyen dans une région tracée automatiquement à 40% de la valeur maximale
$SUV_{m2,5}$	Le SUV moyen dans une région tracée automatiquement $\geq 2,5$ SUL (ou $SUV_{lean}$ ) normalisation du poids à la masse maigre
$SUV_{bsa}$	Normalisation à la surface corporelle
$SUV_{index}$	$SUV_{max}$ tumeur pulmonaire/ $SUV_{mean}$ du foie.

Tableau 3 - Exemple du suivi clinique, biologique et à l'imagerie d'un patient atteint d'un mélanome selon son stade, tiré des recommandations européennes de 2020 (2)

Stade	Examen dermatologique		clinique	Echographie ganglionnaire		LDH, 100	S-	Scan TAP et cervical ou TEP-TDM/ IRMc	
	1 à 3	4 à 10		>10	1 à 3			4 à 10	1 à 3
<b>Années</b>	1 à 3	4 à 10	>10	1 à 3	4 à 10	1 à 4 3 10	à	1 à 3	4 à 10
<b>IA</b>	6 m	12m	12m	-	-	-	-	-	-
<b>IB-IIB</b>	3-6m	6m	12m	6m	-	-	-	--	-
<b>IIC-IIIC</b>	3m	6m	12m	3-6m	-	3- 6m	-	6m	-
<b>IIID</b>	3m	6m	12m	3-6m	-	3- 6m	-	3-6m	-
<b>IV réséqué</b>	3m	6m	12m	3-6m	-	3- 6m	-	3m	-
<b>IV métastases à distances</b>	à Au cas par cas, dépend de la symptomatologie, de l'examen clinique. Sinon au moins tous les 3 mois								

Abréviations : IRMc : imagerie par résonance magnétique cérébrale, LDH : Lactate déshydrogénase, m : mois, Scan TAP : scanner thoraco-abdomino-pelvien.

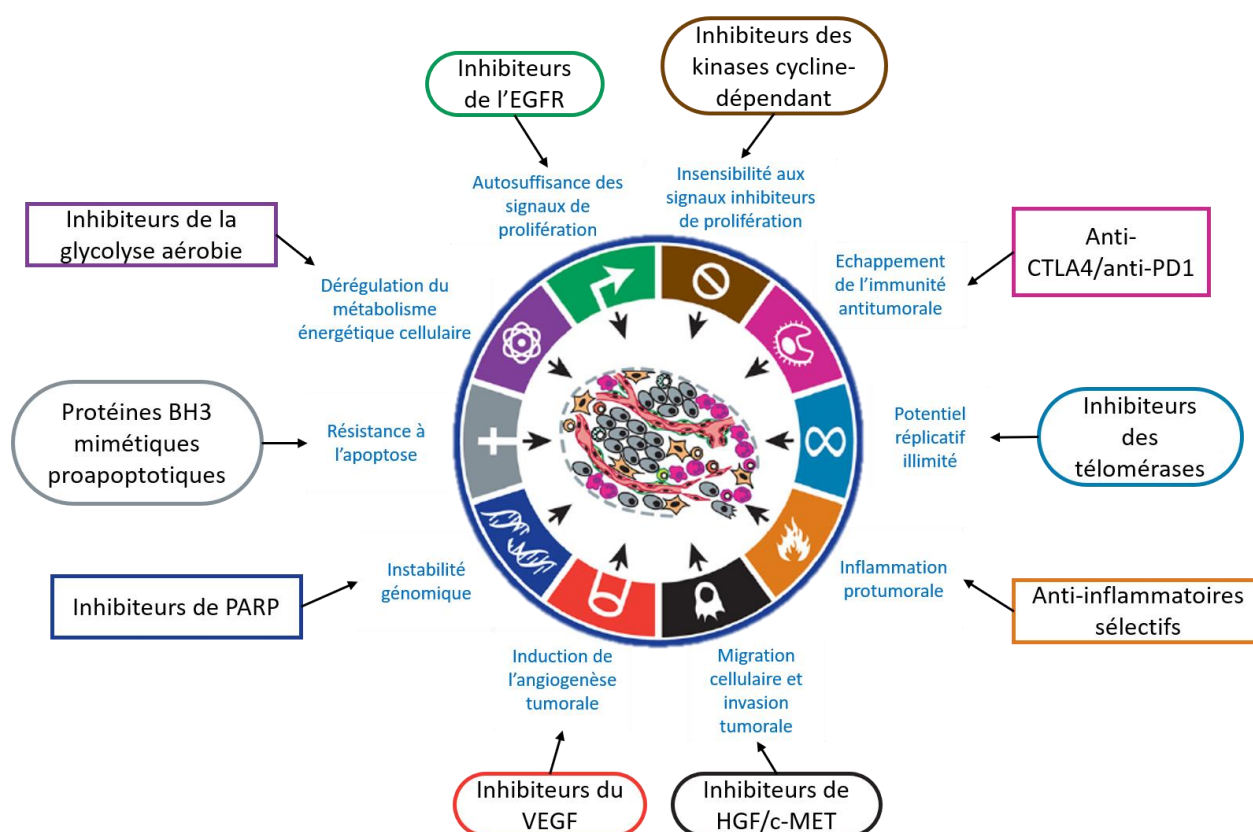


Figure 1 – Les principales caractéristiques du cancer, selon Hanahan et al, traduit en français (18)

Chacune des dix caractéristiques proposées par Hanahan et al, est représenté par une couleur. Elles sont des cibles thérapeutiques de choix, dont le développement est en plein essor. Un exemple de famille médicamenteuse est représenté pour chaque sigle dans un encart de la même couleur.



## XI. Annexes de l'article :

Table 1- Baseline patients' characteristics

All patients	All patients (n=29)	1y-OS0 (n=19)	1y-OS1 (n=10)	P value
<b>Gender, n (%)</b>				
Male	15 (51.7)	9 (47.4)	6 (60)	P=0.699
Female	14 (48.3)	10 (52.6)	4 (40)	
<b>Age (years), mean [range]</b>	67.4 [37-91]	70.4 [51-91]	61.70 [37-85]	P=0.134
<b>WHO performance, n (%)</b>				
<2	26 (89.6)	17 (89.4)	9 (90)	P>0.99
≥2	2 (7)	1 (5.2)	1 (10)	
missing	1 (3.4)	1 (5.2)	0	
<b>Immunotherapy type, n (%)</b>				
Nivolumab	19 (65.5)	13 (68.4)	6 (60)	P=0.69
Pembrolizumab	9 (31)	6 (31.6)	3 (30)	
Ipilimumab & Nivolumab	1 (3.5)	0	1 (10)	
<b>Histology primary melanoma, n (%)</b>				
Cutaneous	15 (51.7)	8 (42.1)	7 (70)	P=0.49
Non cutaneous	5 (17.3)	4 (21)	1 (10)	
Primary melanoma unknown	9 (31)	7 (36.9)	2 (20)	
<b>Organ involvement, n (%)</b>				
(sub)cutaneous	11 (38)	10 (52.6)	1 (10)	P=0.043
Lymph nodes	15 (51.7)	10 (52.6)	5 (50)	P>0.99
Lungs	8 (27.6)	4 (21)	4 (40)	P=0.39
Muscular	4 (13.8)	1 (5.2)	3 (30)	P=0.1
Skeletal	2 (6.9)	2 (10.5)	0	P=0.52
Liver	8 (27.6)	6 (31.6)	2 (20)	P=0.67
Abdominal	9 (31)	5 (26.3)	4 (40)	P=0.67
Adrenal	6 (20.7)	4 (21)	2 (20)	P>0.99
Heart/pericardium	3 (10.3)	1 (5.2)	2 (20)	P=0.26
Brain	8 (27.6)	4 (21)	4 (40)	P=0.39
<b>Cutaneous primary melanoma</b>	<b>All patients (n=15)</b>	<b>1y-OS0 (n=8)</b>	<b>1y-OS1 (n=7)</b>	<b>P value</b>
<b>Histoprognostic factors, n (%)</b>				
Breslow (mm), mean (SD)	4.65 (7.88)	6.27 (9.91)	2.06 (0.92)	P=0.91
Clark				
<IV	3 (20)	2 (25)	1 (14.3)	P=0.99
≥IV	8 (53.3)	4 (50)	4 (57.1)	
missing	4 (26.7)	2 (25)	2 (28.6)	
Ulceration				
Yes	8 (53.3)	5 (62.5)	3 (43)	P=0.8
No	4 (26.7)	2 (25)	2 (28.5)	
Missing	3 (20)	1 (12.5)	2 (28.5)	
Regression				
Yes	1 (6.7)	1 (12.5)	0	P=0.99
No	11 (73.3)	6 (75)	5 (71.4)	
Missing	3 (20)	1 (12.5)	2 (28.6)	
Mitotic index				
High	3 (20)	2 (25)	1 (14.3)	P=0.99
Low	9 (60)	5 (62.5)	4 (57.1)	
Missing	3 (20)	1 (12.5)	2 (28.6)	

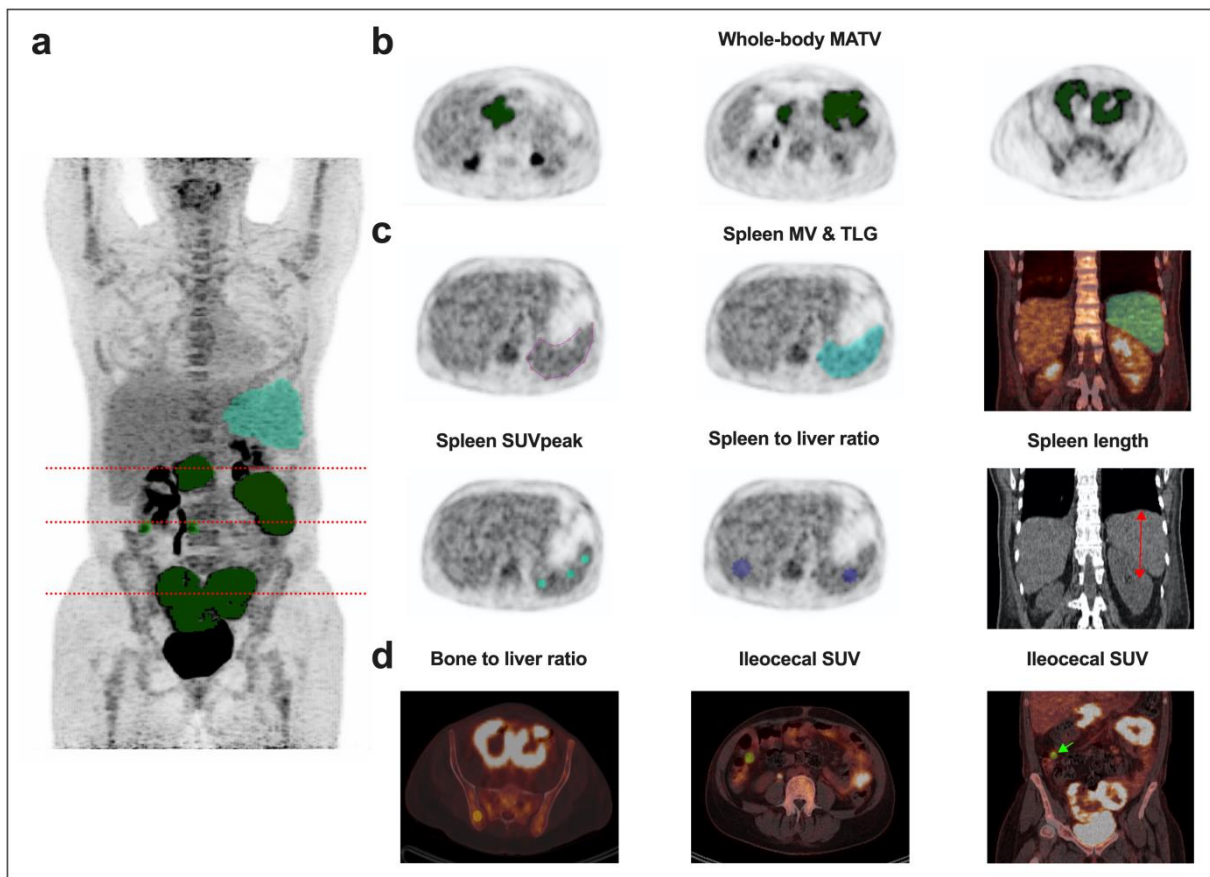


Figure 1- Methodology for measurement of MATV and uptake in immune organs.

<sup>18</sup>F-FDG-PET/CT monitoring in a 50-year-old woman treated for a metastatic melanoma under Nivolumab (a) MIP imaging and (b) PET transverse planes showing the spleen metabolic volume (blue) and the whole body MATV (green). (c) First line from the left to the right. The spleen MV&TLG recording process is shown in the PET transverse plane, beginning by drawing the spleen contours at different levels followed by interpolation to obtain the spleen MV. Second line from the left to the right showing the 3 spleen SUV<sub>peak</sub> VOIs (blue) then the 2 VOIs (purple) used to compute the SLR<sub>max</sub> and SLR<sub>mean</sub>. Finally, the CT in the coronal plane to record the spleen length (red arrow). (d)

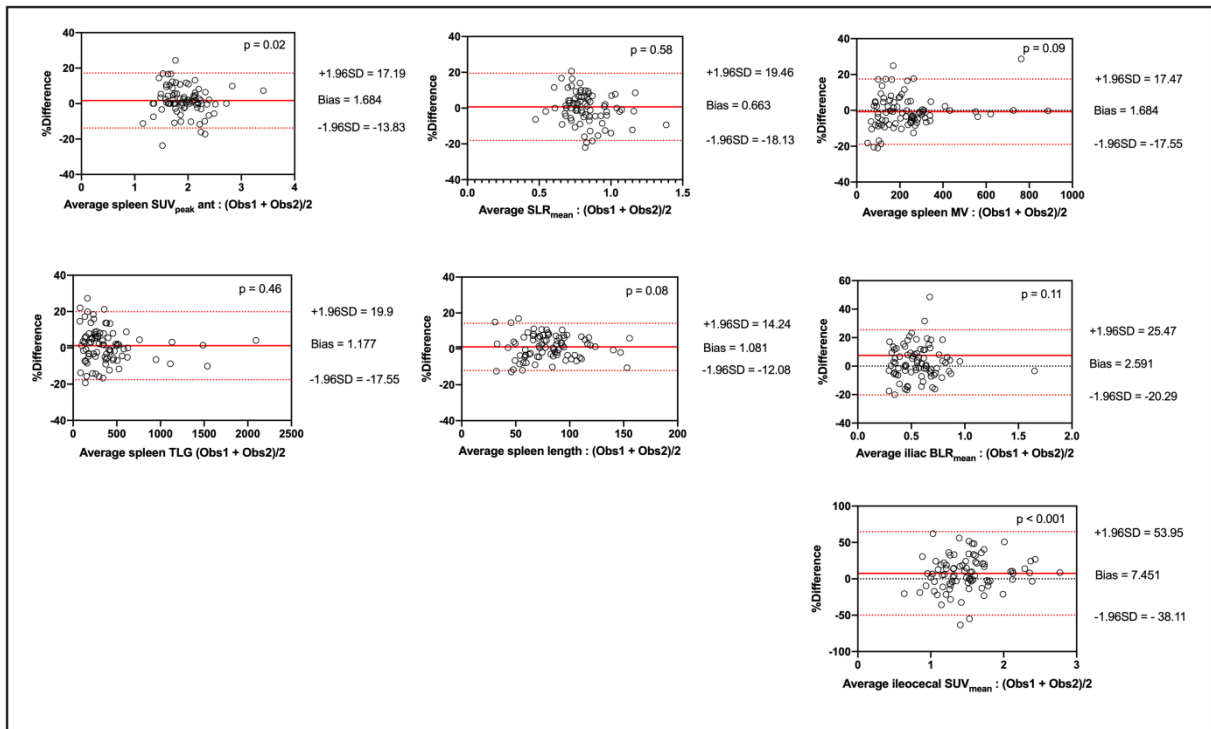
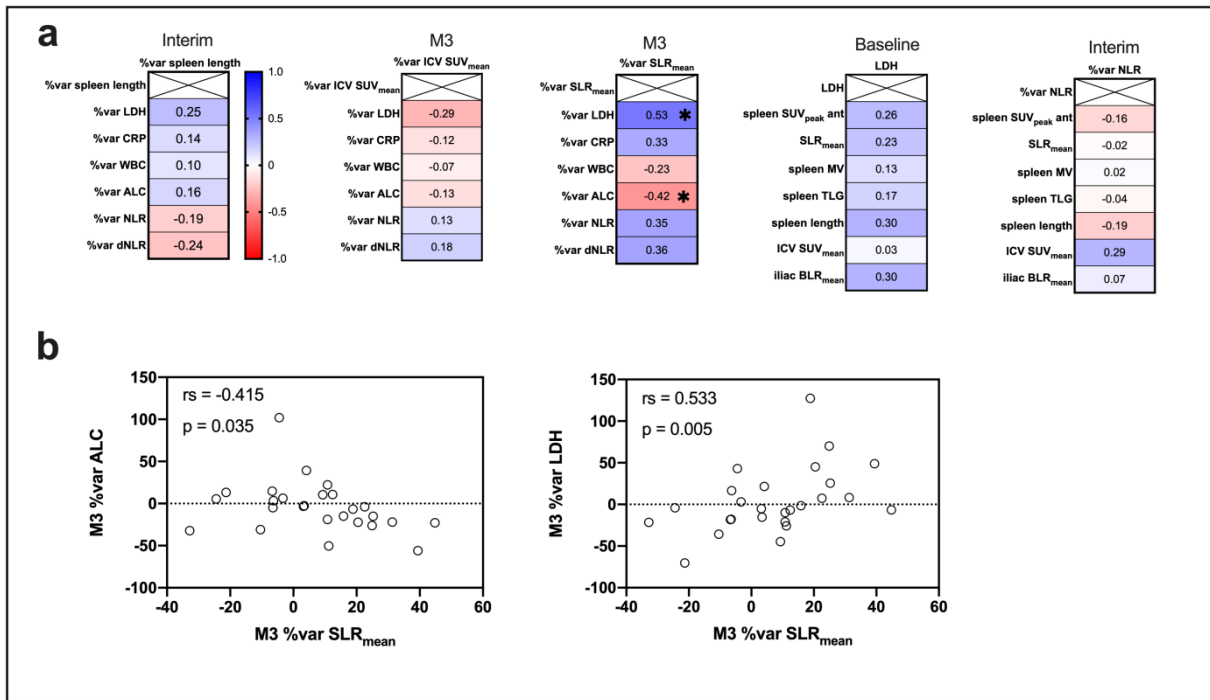
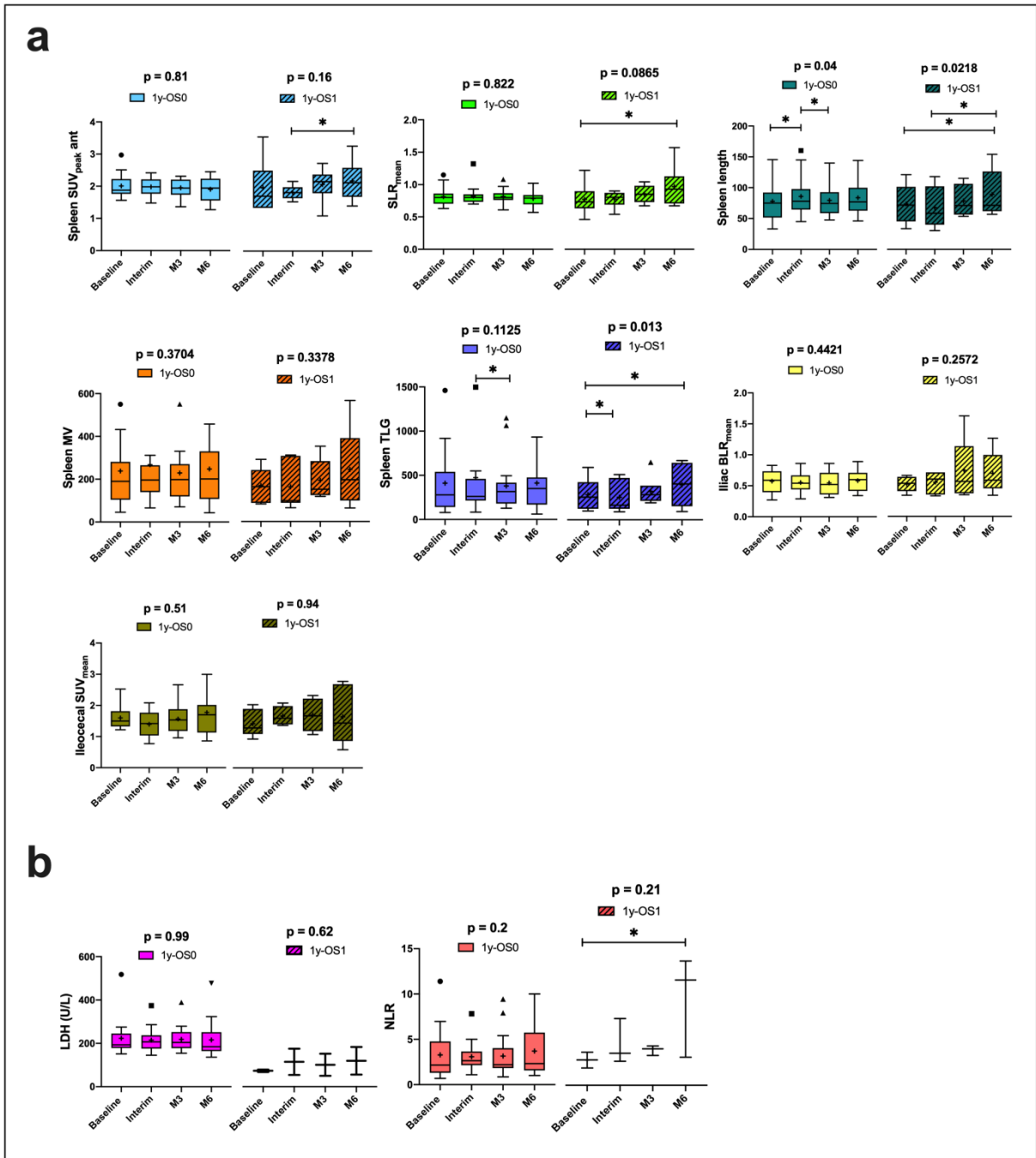


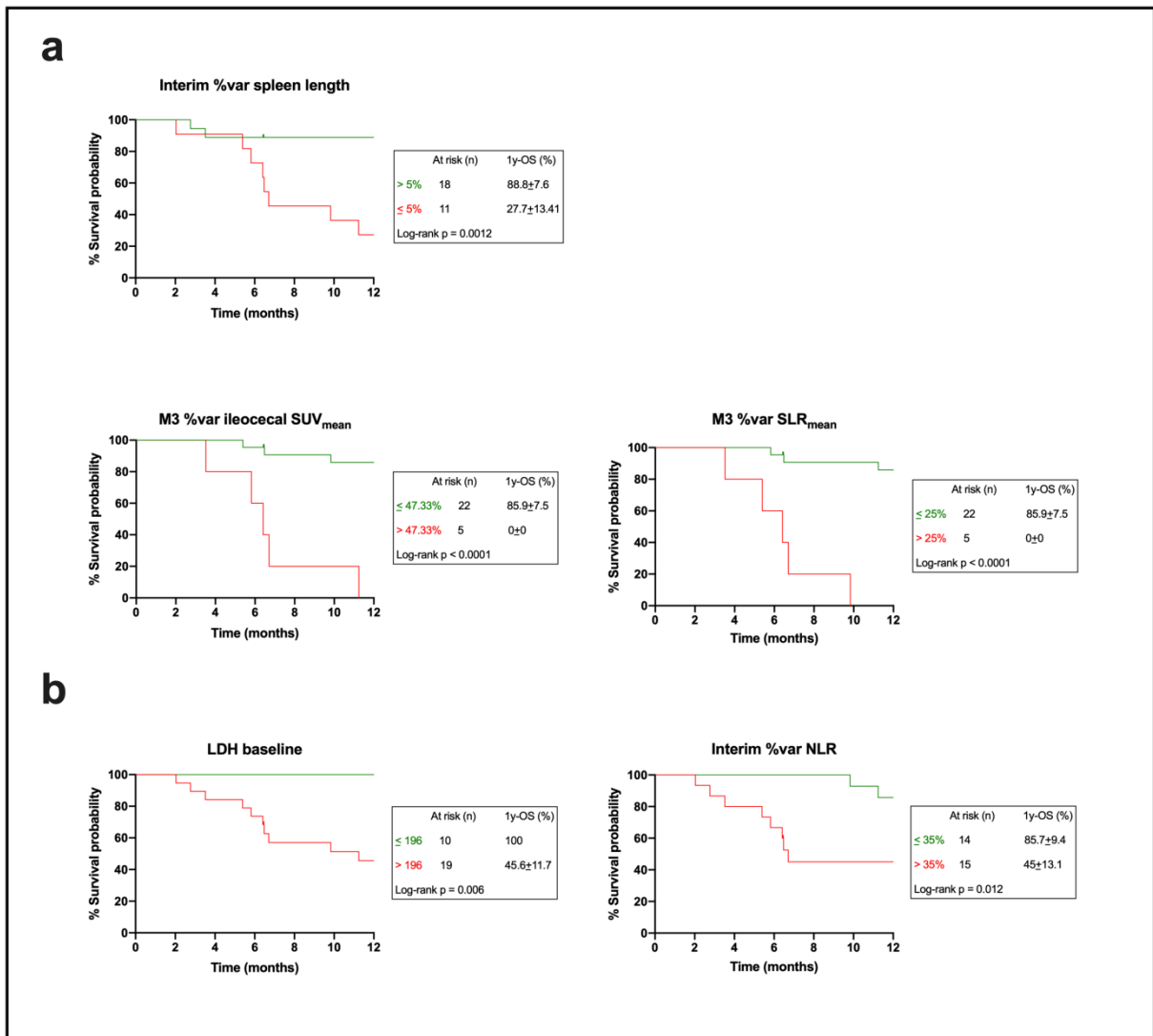
Figure 2- Bland & Altman analysis between two observers for variables displaying the best ICC.



**Figure 3- Correlation matrix using the non-parametric spearman method. (a) Among the best ICC, the 5 variables displayed a significant difference after Mann & Whitney tests according to the 1-year OS status. Spearman rho values are displayed in each cell. Those displaying a significant p value are marked as \*. (b) The two significant correlation are shown.**

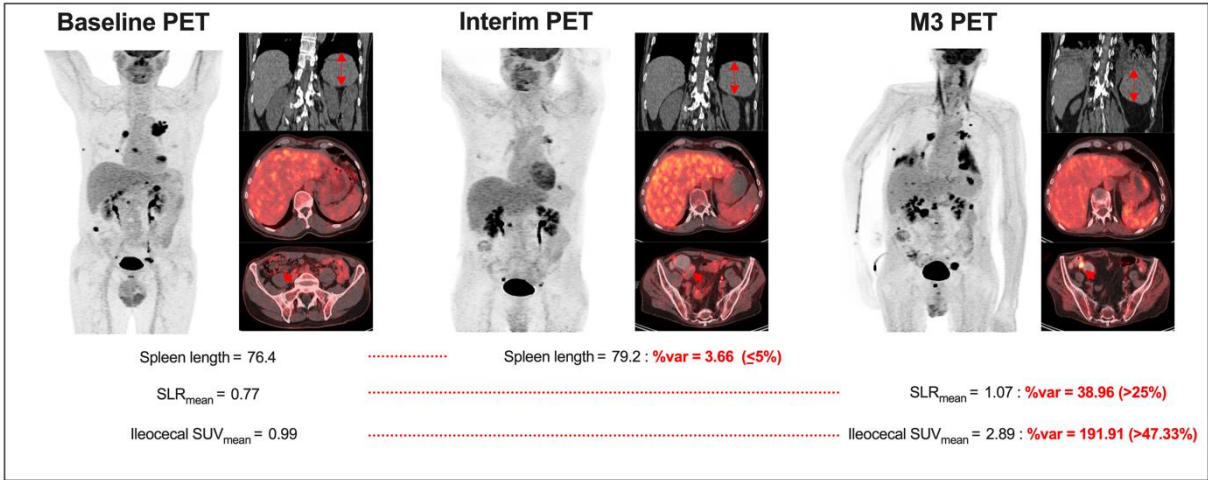


**Figure 4- Evolution of PET (a) and biological (b) variables during treatment with immune checkpoint inhibitors. Results are split according to the survival status at 1 year: 1y-OS as OS0 (survivors) on the left side and OS1 (deceased) on the right side of each graph. Friedman tests were used to compare each variable at different time points.**



**Figure 5: Landmarked Kaplan-Meier estimates of 1-year overall survival (1y-OS) according to (a) 3 PET variables reported as the %var and (b) 2 biology variables.**

Supplementary Data



Supplemental Figure 1: Serial <sup>18</sup>F-FDG-PET/CT imaging in a 64-year-old man with metastatic melanoma treated with nivolumab. Interim and M3-PET display some PET metrics predicting poor outcome: first the absence of increase of %var spleen length on iPET and secondly the increase of the %var SLR<sub>mean</sub> & ileocecal SUV<sub>mean</sub> at M3PET. This patient died during the 1<sup>st</sup> year of follow-up.

Table 2- Intraclass correlation analysis between observer 1 and observer 2

	Baseline(n=29)	Interim (n=29)	M3 (n=27)*	All time points(n=85)
<b>PET variables</b>				
Spleen SUV <sub>max</sub>	0.8635	0.9165	0.8404	0.8769
Spleen SUV <sub>mean</sub>	0.8814	0.9063	0.8933	0.8918
Spleen SUV <sub>peak ant</sub>	0.9262	0.8787	0.9253	<b>0.9156</b>
Spleen SUV <sub>peak middle</sub>	0.9549	0.6436	0.8959	0.8337
Spleen SUV <sub>peak post</sub>	0.9138	0.5738	0.6913	0.7484
SLR <sub>max</sub>	0.7415	0.5352	0.7193	0.6597
SLR <sub>mean</sub>	0.8669	0.8575	0.8603	0.8591
Spleen MTV	0.9935	0.9729	0.9953	<b>0.9838</b>
Spleen TLG	0.9917	0.9976	0.9900	<b>0.9944</b>
Spleen length	0.9845	0.9775	0.9828	<b>0.9812</b>
BLR <sub>max</sub>	0.3437	0.8061	0.9089	0.7649
BLR <sub>mean</sub>	0.8507	0.8608	0.9950	<b>0.9412</b>
SUV <sub>max</sub> ileocecal valve	0.6456	0.7613	0.5363	0.6281
SUV <sub>mean</sub> ileocecal valve	0.5304	0.7391	0.6467	0.6558

\* two patients died before their M3PET evaluation



**Table 3- Mann-Whitney tests results for all PET and biological variables.**

	All n=29		1y-OS 0 n=19		1y-OS 1 n=10		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	p value
<b>PET variables</b>							
Baseline spleen SUV <sub>peak</sub> ant	1.93	0.48	1.96	0.39	1.89	0.63	0.29
Baseline SLR <sub>mean</sub>	0.81	0.16	0.81	0.13	0.81	0.20	0.96
Baseline spleen MTV	217.46	145.72	238.09	171.09	178.28	70.12	0.51
Baseline spleen length	78.34	26.91	78.57	28.20	77.91	25.73	0.70
Baseline WB-MATV	51.95	66.02	37.23	55.08	79.91	78.53	0.06
Baseline BLR <sub>mean</sub>	0.57	0.15	0.58	0.17	0.57	0.11	0.67
Baseline SUV <sub>mean</sub> ileocecal valve	1.52	0.40	1.58	0.35	1.41	0.48	0.17
Interim %var spleen SUV <sub>peak</sub> ant	3.10	17.81	3.48	16.76	2.37	20.59	0.84
Interim %var SLR <sub>mean</sub>	2.83	19.41	3.31	19.12	1.92	20.96	0.74
Interim %var spleen MTV	17.15	47.39	19.12	43.10	13.42	57.00	0.60
<b>Interim %var splenic length</b>	<b>9.37</b>	<b>28.02</b>	<b>15.93</b>	<b>31.43</b>	<b>-3.10</b>	<b>14.27</b>	<b>0.01</b>
Interim %var WB-MATV	79.98	188.77	64.23	142.39	109.92	262.27	0.77
Interim %var BLR <sub>mean</sub>	-3.57	21.81	-0.60	20.22	-9.21	24.66	0.46
Interim %var SUV <sub>max</sub> ileocecal valve	2.07	37.97	-8.55	24.11	22.23	51.33	0.15
M3 %var spleen SUV <sub>peak</sub> ant	-2.40	33.96	1.82	17.32	-10.41	53.67	0.90
<b>M3 %var SLR<sub>mean</sub></b>	<b>8.06</b>	<b>18.85</b>	<b>3.39</b>	<b>14.31</b>	<b>19.15</b>	<b>24.36</b>	<b>0.03</b>
M3 %var spleen MTV	17.22	45.43	14.65	46.18	23.32	46.04	0.62
M3 %var splenic length	9.69	25.51	8.36	27.24	12.87	22.18	0.58
M3 %var WB-MATV	75.27	277.63	63.64	311.28	102.90	189.43	0.20
M3 %var BLR <sub>mean</sub>	6.25	35.99	-1.47	21.84	24.59	55.12	0.20
<b>M3 %var SUV<sub>mean</sub> ileocecal valve</b>	<b>33.35</b>	<b>94.13</b>	<b>2.38</b>	<b>26.85</b>	<b>106.91</b>	<b>149.24</b>	<b>0.03</b>
<b>biological variables</b>							
<b>Baseline LDH (UI/L)</b>	<b>242.21</b>	<b>86.31</b>	<b>226.11</b>	<b>85.09</b>	<b>272.80</b>	<b>84.33</b>	<b>0.04</b>
Baseline ALC	1677	715.5	1875	723.5	1574	708.3	0.26
Baseline NLR	3.15	2.34	3.25	2.63	2.98	1.76	0.98
Baseline dNLR	0.84	0.05	0.84	0.05	0.85	0.04	0.70
Interim %var LDH	4.98	37.26	1.20	38.87	12.96	34.36	0.56
Interim %var ALC	22.43	50.78	13.05	39.53	40.27	66.01	0.51
<b>Interim %var NLR</b>	<b>53.38</b>	<b>80.27</b>	<b>29.52</b>	<b>56.50</b>	<b>98.71</b>	<b>100.87</b>	<b>0.05</b>
Interim %var dNLR	-0.49	6.16	-1.23	6.51	0.90	5.47	0.46
M3 %var LDH	5.88	39.76	6.51	42.84	4.41	33.92	0.98
M3 %var ALC	14.91	55.86	17.69	55.51	8.30	59.95	0.98
M3 %var NLR	44.34	101.74	28.86	86.48	86.33	133.69	0.11
M3 %var dNLR	0.39	9.40	0.14	10.04	1.05	8.04	0.65

%var: percentage variation. LDH: lactate deshydrogenase. ALC: absolute lymphocytes count. NLR: neutrophils to lymphocytes ratio. dNLR: derived neutrophils to lymphocytes ratio. Bold lines correspond to statistically significant results.

**Table 4- ROC analyses results for PET and biological variables of importance to predict 1y-OS**

	AUC	95% CI	Cut-off value	Sensitivity	Specificity	Accuracy	P value
<b>PET variables</b>							
<b>Interim %var spleen length</b>	0.800	0.629-0.971	<5%	80.0	84.2	88.8	0.001
<b>M3 %var SLR<sub>mean</sub></b>	0.776	0.523-1.000	>25%	62.5	100.0	88.9	0.028
<b>M3 %var SUV<sub>mean</sub> ileocecal valve</b>	0.773	0.503-1.000	>47%	62.5	100.0	88.9	0.047
<b>Biological variables</b>							
<b>Baseline LDH</b>	0.737	0.557-0.917	>196	100.0	52.6	69.0	0.010
<b>Interim %var NLR</b>	0.726	0.514-0.939	>35%	80.0	63.2	69.0	0.037

%var: percentage variation. SLR: spleen-to-liver ratio LDH: lactate dehydrogenase. NLR: neutrophils to lymphocytes ratio.

**Table 5- Statistical description of main immune activation variables**

Time	Baseline (n=29)	Interim (n=29)	M3 (n=27)	All time points (n=85)
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	P value Median (IQR)
<b>PET Variables</b>				
<b>Spleen SUV<sub>max</sub></b>				<b>0.001</b>
Observer 1	2.19 (0.52)	2.31 (0.27)	2.42 (0.63)	2.29 (0.555)
Observer 2	2.19 (0.61)	2.21 (0.385)	2.34 (0.5)	2.24 (0.51)
<b>Spleen SUV<sub>mean</sub></b>				<b>0.04</b>
Observer 1	1.75(0.33)	1.8 (0.255)	1.86 (0.41)	1.79 (0.34)
Observer 2	1.905 (0.47)	1.74 (0.33)	1.81 (0.29)	1.76 (0.345)
<b>Spleen SUV<sub>peak ant</sub></b>				<b>0.02</b>
Observer 1	1.8 (0.425)	1.97 (0.39)	2.03 (0.46)	1.9 (0.415)
Observer 2	1.7 (0.515)	1.92 (0.395)	1.99 (0.43)	1.89 (0.525)
<b>Spleen SUV<sub>peak med</sub></b>				<b>0.007</b>
Observer 1	1.86 (0.495)	2 (0.345)	2.04 (0.43)	1.98 (0.41)
Observer 2	1.89 (0.555)	1.97 (0.39)	1.99 (0.33)	1.95 (0.4)
<b>Spleen SUV<sub>peak post</sub></b>				0.1
Observer 1	1.85 (0.41)	1.93 (0.29)	2.08 (0.33)	1.93 (0.35)
Observer 2	1.84 (0.45)	1.87 (0.3)	1.99 (0.36)	1.91 (0.39)
<b>SLR<sub>max</sub></b>				0.12
Observer 1	0.81 (0.165)	0.79 (0.125)	0.82 (0.2)	0.81 (0.15)
Observer 2	0.77 (0.16)	0.79 (0.2)	0.89 (0.21)	0.79 (0.195)
<b>SLR<sub>mean</sub></b>				0.58
Observer 1	0.79 (0.165)	0.8 (0.115)	0.82 (0.19)	0.8 (0.13)
Observer 2	0.75 (0.185)	0.78 (0.195)	0.82 (0.2)	0.79 (0.185)
<b>Spleen MV</b>				0.09
Observer 1	190.1 (149.7)	202.9 (172.8)	207.9 (162.6)	202.9 (148.4)
Observer 2	186.3 (130)	320.6 (267.7)	207.3 (169.4)	198.9 (165.5)
<b>Spleen TLG</b>				0.46
Observer 1	236.3 (235.8)	320.6 (267.7)	315.3 (298.9)	300.3 (263.6)
Observer 2	277.6 (261.2)	313.2 (309.3)	330.1 (321.4)	295.4 (273.6)
<b>Spleen length</b>				0.08
Observer 1	78.6 (37.05)	80.4 (32.95)	78.4 (41.9)	79.7 (34.2)
Observer 2	76.2 (34.35)	87 (29.9)	72.6 (44.2)	76.2 (30.3)
<b>Iliac BLR<sub>max</sub></b>				<b>&lt; 0.001</b>
Observer 1	0.47 (0.188)	0.58 (0.191)	0.613 (0.261)	0.52 (0.205)
Observer 2	0.604 (0.22)	0.589 (0.191)	0.643 (0.268)	0.6 (0.2)
<b>Iliac BLR<sub>mean</sub></b>				0.11
Observer 1	0.6 (0.212)	0.54 (0.226)	0.55 (0.21)	0.566 (0.245)
Observer 2	0.551 (0.231)	0.525 (0.21)	0.51 (0.362)	0.544 (0.223)
<b>Ileocecal SUV<sub>max</sub></b>				0.94
Observer 1	2.11 (0.7)	2.23 (1.06)	2.34 (0.95)	2.2 (0.85)
Observer 2	1.92 (0.48)	2.18 (0.74)	2.38 (0.98)	2.13 (0.715)
<b>Ileocecal SUV<sub>mean</sub></b>				<b>&lt; 0.001</b>
Observer 1	1.47 (0.54)	1.53 (0.7)	1.61 (0.79)	1.53 (0.62)
Observer 2	1.28 (0.28)	1.45 (0.56)	1.53 (0.74)	1.35 (0.475)

IQR: Interquartile Range; Post: posterior; Med : median ; Ant: anterior ; P value : from Wilcoxon tests

**Supplemental table 1:** Descriptive statistics and reproducibility analysis of the 14 common variables between PET reader 1 & 2, measured on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT as immune activation signs from baseline to M3-PET.

« Par délibération de son Conseil en date du 10 Novembre 1972, l'Université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ou mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs ».

VU, le Président de Thèse

VU, le Doyen de la Faculté

VU et permis d'imprimer  
en référence à la délibération  
du Conseil d'Université  
en date du 14 Décembre 1973

Pour le Président  
de l'Université de CAEN et P.O

Le Doyen

**ANNEE DE SOUTENANCE** : 2021

**NOM ET PRENOM DE L'AUTEUR** : EZINE Emilien

**TITRE DE LA THESE** : « Evaluation des organes lymphoïdes au TEP-TDM 18F-FDG durant le traitement par inhibiteurs de checkpoints immunitaires chez des patients atteints d'un mélanome stade III inopérable ou IV »

**RESUME DE LA THESE EN FRANÇAIS** :

Contexte: L'immunothérapie (ICI) a révolutionné la prise en charge des mélanomes métastatiques. Il est nécessaire de développer des biomarqueurs robustes pour prédire la réponse des patients. Nous avons étudié les organes lymphoïdes (OL) par TEP-TDM au FDG, et leurs évolutions afin de tester leur corrélation avec la réponse, et comparé à 7 marqueurs clinico-biologiques.

Méthode: Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique, observationnelle, chez des patients >18 ans, ayant un mélanome stade III inopérable ou IV sous ICIs, suivi par un TEP-TDM au FDG pré-thérapeutique (TEP0), au 1<sup>e</sup> (iTEP), au 3<sup>e</sup>(M3) et au 6<sup>e</sup> (M6) mois. Nous avons analysé 14 paramètres sur les OL, et testé leur reproductibilité inter-observateurs en calculant des coefficients de corrélations intra classe (ICC). Les plus reproductibles ont été utilisés afin de prédire la survie globale (OS), et leurs corrélations ont été testés avec les marqueurs clinico-biologiques.

Résultats: 29 patients ont été analysés. Les ICC >0.90 ont été observés pour 5 paramètres. Le ratio rate/foie moyen (SLRm) était de 0.86. Chez les patients décédés à 1 an (1y-OS 1), le SLRm était significativement différent à M6 (p=0.019). Dans le groupe 1y-OS 0, la flèche splénique (FS) à iTEP augmentait significativement, en comparant avec TEP0 (p=0.014) et M3 (p=0.0239). L'analyse de survie montrait que la variation de la FS à interim, du SLRm à M3, du NLR à iTEP, des LDH à TEP0, et de la réponse à M6 était prédictive de l'OS à 1 an.

Conclusion: l'augmentation ≥25% du SLRm à 3 mois, pourrait être un marqueur pronostique chez les patients ayant un mélanome sous immunothérapie, en étant associé à une moins bonne survie globale.

**MOTS CLES** : Inhibiteurs de checkpoints immunitaires ; mélanome ; TEP/TDM ; Rate ; Valvule iléocaecale, imPERCIST ; Effets indésirables auto-immuns.

**TITRE DE LA THESE EN ANGLAIS**: "Assessing immune organs on 18F-FDG PET/CT imaging for therapy monitoring of immune checkpoint inhibitors: inter-observer variability, prognostic value and evolution during the treatment course of melanoma patients"

**RESUME DE LA THESE EN ANGLAIS** :

Background: Immunotherapy (ICI) has revolutionized the management of metastatic melanoma. There is a need to develop robust biomarkers to predict patient response. We studied the lymphoid organs (LO) by 18FDG-PET/CT, and their evolutions to assess their correlation with response, and compared them to 7 clinical and biological markers.

Method: This is a retrospective, single-centered, observational study including adult patients with inoperable stage III or IV melanoma under ICIs and followed by a baseline PET/CT (PET0), at 1st (iPET), 3rd (M3PET) and 6th (M6PET) month. We analysed 14 parameters on OLs and tested their inter-observer reproducibility by calculating intra-class correlation coefficients (ICC). The most reproducible ones were used to predict overall survival (OS), and their correlation were assessed with clinical and biological markers.

Results: 29 patients were analysed. ICCs > 0.90 were observed for 5 parameters. The mean spleen / liver ratio (SLRm) was 0.86. In patients who died at 1 year (1y-OS 1), the SLRm was significantly different at M6PET (p = 0.019). In the 1y-OS 0 group, iPET spleen length (SL) increased significantly, compared with PET0 (p = 0.014) and M3PET (p = 0.0239). Univariable Kaplan-Meier survival analysis found that i%var SL, M3%var SLRm, baseline LDH, i%var NLR and response at M6PET were all predictors of 1y-OS.

Conclusion: SLRm could be a prognostic marker in patients with melanoma receiving immunotherapy, its increase being over than 25% at 3 months, compared to baseline, was associated with poor outcome after ICIs.

**KEY WORDS** : Immunes checkpoints inhibitors; melanoma; 18F-FDG; PET/CT; spleen; ileocecal valve; imPERCIST; irAE