



HAL
open science

Métabolites circulants de la voie du tryptophane et réponse à l'immunothérapie chez les patients atteints de cancer : valeur prédictive et mécanisme de résistance

Florent Peyraud

► **To cite this version:**

Florent Peyraud. Métabolites circulants de la voie du tryptophane et réponse à l'immunothérapie chez les patients atteints de cancer : valeur prédictive et mécanisme de résistance. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03352840

HAL Id: dumas-03352840

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03352840>

Submitted on 23 Sep 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 BORDEAUX
U.F.R. DES SCIENCES MÉDICALES

Année 2021

Thèse n°3092

THÈSE POUR L'OBTENTION DU
DIPLÔME D'ÉTAT de DOCTEUR EN MÉDECINE

Discipline : **ONCOLOGIE MÉDICALE**

Présentée et soutenue publiquement

Par PEYRAUD Florent

Né le 25 Février 1991 à Bruges (33)

Le 21 Septembre 2021

MÉTABOLITES CIRCULANTS DE LA VOIE DU
TRYPTOPHANE ET RÉPONSE À
L'IMMUNOTHÉRAPIE CHEZ LES PATIENTS
ATTEINTS DE CANCER

Valeur prédictive et mécanisme de résistance

Sous la direction de : Monsieur le Professeur Antoine ITALIANO

Rapporteur : Monsieur le Professeur Patrick BLANCO

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Pierre SOUBEYRAN
Monsieur le Professeur Patrick BLANCO
Monsieur le Professeur François-Xavier MAHON
Madame le Docteur Sophie COUSIN
Monsieur le Professeur Antoine ITALIANO

Président
Rapporteur et Examineur
Examineur
Examinatrice
Directeur et Examineur

REMERCIEMENTS

Aux Membres du Jury

À Monsieur le Professeur Pierre SOUBEYRAN,

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie sincèrement pour l'ensemble des conseils que vous avez pu me prodiguer durant l'ensemble de mon internat. Votre présence signifie beaucoup pour moi.

À Monsieur le Professeur Patrick BLANCO,

Vous me faites l'honneur de rapporter et de juger ce travail en apportant une vision experte en immunologie et complémentaire de celle des oncologues. Recevez mes sincères remerciements.

À Monsieur le Professeur François-Xavier MAHON,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail et d'y apporter votre regard expérimenté. Veuillez recevoir toute ma reconnaissance et l'expression de mon profond respect.

À Madame le Docteur Sophie COUSIN,

Au-delà de ton humanité, ta force de caractère, ta rigueur et ton professionnalisme sont des exemples à suivre. Reçois ma profonde gratitude pour l'ensemble de l'enseignement et des conseils que tu m'as transmis.

À Monsieur le Professeur Antoine ITALIANO,

Votre force de travail et votre savoir m'inspirent énormément de respect. Recevez ma profonde gratitude pour la confiance et la bienveillance que vous m'avez accordées tout au long de mon internat. Je vous remercie d'avoir dirigé cette thèse et de m'avoir initié à la recherche clinique. Ma reconnaissance est immense.

Aux médecins et équipes qui m'ont accompagné

À toute l'équipe de Bayonne, Dr Dominique LARREGAIN, Dr Anne SEVILLA, Dr Pierre MARTY, et plus particulièrement au Dr Jean-Philippe DUTIN, ton humanité, tes conseils et ta bienveillance ont fait de moi le médecin que je suis aujourd'hui.

À toute l'équipe d'hématologie de Magendie du CHU Haut-Lévêque, Dr Thibaut LEGUAY, Julien et la formidable team paramédicale.

À toute l'équipe de radiothérapie de Libourne, Dr Muriel GARCIA-RAMIREZ, Dr Samir ABDICHE, Dr Maylis CARRICABURU. Aux secrétaires Isabelle et Lucie, toujours de bonne humeur et pleines d'énergie !

À toute l'équipe de Saint-André, Dr Amandine QUIVY, Dr Charlotte BRONNIMANN (et tes visites de l'espace), Dr Fanny LAFAYE, Dr Valérie COCHIN, Dr Laurence DIGUE, Dr Isabelle CATRY-THOMAS et Dr Nathalie TRUFFLANDIER.

Aux Dr Baptiste SIONNEAU et Dr Amaury DASTE pour votre gentillesse, votre humour (parfois limite !) et vos compétences professionnelles.

Au Dr Marine GROSS-GOUPIL, vos connaissances et votre disponibilité imposent le respect, je vous remercie pour votre pédagogie et votre confiance.

Au Professeur RAVAUD, votre bienveillance et vos conseils forcent l'admiration, recevez mon respect et ma profonde gratitude.

À toute l'équipe de réanimation Dr Olivier GUISSSET, Dr Fabrice CAMOU (et tes connaissances infinies), Dr Gaëlle MOURISSOUX, et Dr Nahéma ISSA, merci d'avoir su rester patients alors que nous apprenions. À Elsa, merci pour tes conseils et tes histoires de voyage aux 4 coins du monde.

À toutes les équipes paramédicales de l'Institut Bergonié, hospitalisation et hôpital de jour, Pierre, Emelyne "Mouche", Sam, Cécile, Kate, Philippe, Marine, et j'en oublie.

À tous mes chef(fe)s lors de mes différents passages sur l'Institut : Mathilde, Kevin, et Corentin, de vrais exemples et toujours présents pour de bons conseils.

À tous les médecins fantastiques, Sophie (un exemple), Dr Guilhem ROUBAUD (merci pour ta pédagogie et tes conseils avisés), Dr Maud TOULMONDE, Dr Nathalie

QUENEL-TUEUX, Dr Marc DEBLED, Dr Yann GODBERT, Dr BIJOU et Dr Anne FLOQUET pour toute l'attention que vous portez à vos internes de vos patients, et pour toute la conscience que vous mettez dans votre travail. Vous êtes de magnifiques exemples que j'espère atteindre.

Aux fabuleux médecins des soins de support, Dr Mickaël DESROCHES, Dr Fabienne JOUANNET, Dr Nathalie LE GALL et Dr Sophie MORIN, votre humanité et votre expérience sont essentielles pour la prise en charge de nos patients.

Au Professeur BONNEFOI, je vous adresse mon immense respect et ma profonde gratitude. Échanger avec vous est toujours un grand plaisir.

Au Professeur Nicolas LARMONIER, ton expertise et ta passion pour l'onco-immunologie sont des exemples. À toute l'équipe du CNRS UMR 5164 ImmunoConcEpT, à tous les ingénieurs et thésards, je ne pouvais pas rêver mieux pour découvrir le monde de la Recherche. Malgré le COVID, cette année à vos côtés fut passionnante.

À Céline, travailler à tes côtés fut un réel plaisir. Merci de m'avoir appris les bases de la recherche en laboratoire (culture et co-culture cellulaire) !

À toute la plateforme Vill'Hop (Yaniss, Hugo, Léo-Paul, Laure, Marie, etc.), aux Pr CAZANAVE et Pr BLANCO pour votre investissement et votre bonne humeur permanente durant cette expérience inédite.

À toute l'équipe médicale et paramédicale du DITEP (Capucine, Aurélien, Stéphane, Rastio, Anas, Antoine...). À Christophe (le Professeur), merci pour l'attention permanente que tu nous portes.

À tou(te)s les Chef(fes), Alice, Ariane, Loïc, Arthur, malgré le semestre confiné, merci pour votre sympathie et votre pédagogie.

À Arnaud le palois, nos origines communes nous ont naturellement rapproché. Ta bonne humeur et ta force de travail m'inspirent. Je te remercie pour ta bienveillance.

À toute l'équipe de biopathologie de l'Institut Bergonié, à tous les techniciens et ingénieurs, aux Dr Gaëtan MACGROGAN, Dr Houda BEN REJEB, Dr Sabrina CROCE, Dr Raul PERRET, Dr Cécile HARTOG, Dr Emmanuel KHALIFA, Dr Mélissa ALAME, Dr Laura BLOUIN et Dr Rym EL MEDDEB.

Au Dr Benjamin BONHOMME, merci pour ta patiente et les connaissances transmises durant le semestre.

Au Dr Isabelle SOUBEYRAN, merci pour votre gentillesse et votre pédagogie.

À toute l'équipe d'ImmuSmol/Explicyte pour leur collaboration et leur aide dans mes travaux de recherche. Merci Jean-Philippe pour tes analyses et ton aide sur le langage R. Merci Alban pour ton expertise et ta confiance.

À mes nombreux co-internes, compagnons de travail, de fou-rires et de galère :

Hans, Leïla (Docteur Leïla !), Alexandra, Diego (et nos blagues en série), Fardeen (la sardine), Lucie et Pauline (Lulu et Popo, la douceur incarnée dans l'hostile U8), Margot, Gabrielle (et Benjamin), Marie, Perrine, Nicolas et Hugo (le fleuron des jeunes pathologistes).

À mes fabuleux co-internes de réa sans qui ce stage n'aurait jamais été le même : Guillaume l'interniste qui sait tout, Joffrey dit "Joff" le mercenaire, Ingrid la fan du maître "quenellier" (« en fait »).

À Martin dit « Yves », mon colocataire parisien durant ces 6 mois de confinement.

À mes co-internes exceptionnels du DITEP (Onko-Lanta), Maud mon économinette, Marion pan-hallux valgus, Pauline la pédiatre, Natacha la Présidente, Nicolas le papa, et Adrien le parisien.

A tous mes collègues de promo (petits et grands), Coriolan le bienveillant (très chevaleresque mais plutôt approprié), Félix le référent (et tes conseils avisés), Thomas, Camille, Laura S, Laura L, Laura P, Laura H, Fred, Yasmine, Thibaud, Clément, Anthony, Mathilde, Maxime, Quentin, Alexis, Mario, Nicolas B., Florent V., Anne-Marie... et à tous ceux que j'oublie. Je suis heureux d'avoir croisé votre route et bonne chance pour la suite !

À mes proches

À mes amis de toujours,

Robin, Louis, Stéphane, Guillaume. Grâce à vous, ces années lycées resteront inoubliables. Nous avons tellement de délires et de souvenirs ensemble (tout le monde avait le droit à son petit surnom) ! Malgré le temps et la distance, votre amitié m'est précieuse.

À mes amis de médecine,

De l'externat,

Aux bordeluches Benjous (le trio internal !), Xav (Okayzzz), ClemBru, Gauth, Éléonore dit "Nonzi", Etienne (surfeur du Ferret), compagnons de fac, de WEI et de pool-party !

Giulia (pana-Scotta), Clémentine (la Truff'), Édouard (le lombrik), à Jean-Philippe mon compagnon de P1 et beciste dans l'âme ("Hiii-pééé, les chasoubles"), Agathe la réunionnaise et Guillaume GLB (et notre parcours bordelais), Romane (la n°1), Boris (FIFA + Charcuterie = Bonheur), Louise et Mag, Florent (la papinade), mais aussi à tous les autres que j'oublie (pardon !).

De l'internat,

Guillaume Goldzak (Marine et Hortense), mon fidèle acolyte (ou alcoolique ?) d'hémato (quel semestre !) et de l'ESMO, toujours le bon mot (et le bon vin).

Simon (prononc. [S-ay-mone]), mon pote toulousaing, une rencontre merveilleuse et une belle amitié.

Nicolas ("NiGiraud" ou NG7), au-delà de tes compétences (immenses !) en radiothérapie, je garde en tête nos incroyables parties de ping-pong (que de bons moments malgré tes défaites) et nos sorties matchs (foot, rugby... bientôt les JO !).

Mathieu ("Larroquettas") et Alice, un collègue solidaire et une super rencontre !

Matthieu et Simon, les "Tic et Tac" de l'oncologie bordelaise, de formidables partenaires de foot (et de soirée).

Luc et Paul, vos expressions et votre humour nous ont forcément rapproché.

Maëlle et Paulin (frère de pizza), Mathilde et Joris (« Magdalenat », frère de soirée),

Amaury (et nos parties de tennis), Alice (sacrée coloc' à Bayonne).

À toute la Team du CDA (Léopold, Joan, Pierre... et Thijjib !).

À ma famille de médecine

À Florent (et ton immense famille !), mon pote des années lycée (pigeon max) et fidèle allié depuis cette 1^e année de médecine. Le premier que j'ai connu dans cette bande de 5, tu me fais rire constamment et je suis fier de t'avoir comme ami.

À Julien (et ta future épouse Aline), qui aurait cru qu'un simple ramassage de stylo aboutisse à une si belle amitié ! Nous avons tellement de bons souvenirs en commun (voyageS, soccer 5, parties de tennis estivale [à quand la revanche ?]). Tu es un exemple, et je suis chanceux de t'avoir comme ami proche. À toute la famille Rigal.

À Édouard (et ta magnifique épouse Gaëlle), ta bonne humeur constante m'impressionne ! Je suis fier d'être le dernier à succéder au Premier. Merci de toujours être là quand on a besoin de toi, mon pote. À toute la famille Larrey.

À Amir (et... ton couteau ↙), le S, leader d'une incroyable Team ! Je suis privilégié de t'avoir comme ami, tu m'inspires le respect. Je n'attends qu'une seule chose : qu'on reparte ensemble à l'autre bout du monde ! (NB : Amir Redjous sur #Insta)

À Pierre-Louis (PL, Per-Louis, ♣), l'Homme aux 1000 connaissances, sur qui on peut toujours compter. Sache que je serai toujours là pour te raconter les « gamBAS » !

À P-A (le tapeur de pied), Thibault (Thibouille) et ta famille d'une générosité XXL, Vincent (Vinci le niçois, golfeur hors pair ♣), vous êtes de formidables personnes. Même si j'ai parfois du mal à vous suivre (ah bon ?), il me tarde le prochain « Noël des copains » !

À mes amis d'enfance

Thomas (et Madeleine), quelle fidélité ! Depuis cette rencontre en 5^e, notre amitié n'a fait que s'amplifier. Merci pour tous ces moments incroyables. Un vrai frère de sang ! Caroline (et Édouard le capitaine), cette P1 nous a rapproché (la voiture, la radio, le chauffage, etc.), je suis heureux de ta réussite professionnelle et personnelle, ton amitié m'est chère. Une pensée aussi pour toute la famille Boiteau/Renaud et pour Valou !

Raphaël Michel (et Angélique), RaphMich, Rafut, de nos années collèves aux brigands du jeudi en passant par Berlin, tu es l'ami parfait.

Et à tous les autres : Hugo La Chance, fin comme un tamis à citrouille, Denis la malice, Julia dit « Joul » (la plus ancienne de toutes et tous !).

Aux autres,

François dit Francis et ta femme Axelle (“AAAxXX”), ces sorties de burlingues en bombe au Dickens et à la Comtesse (sur la route) me manquent, je te souhaite le meilleur à G'nève.

Marie (et Hugo), Paul Fabiano, Alexandre Mikol (et ta petite femme Pauline, “Don't take me home”), Tommy le bavarois, et tous ceux que j'oublie.

À ma belle famille

Roselyne et Michel, votre bienveillance et votre soutien me sont précieux, et je ne peux que vous remercier de m'avoir si chaleureusement accueilli au sein du clan BACCI !

Emma (pour les fautes d'*hortaughrafe*) et Théo, Renaud (pour le DBJ), Marie et Léa, Julia (pour tes bons petits plats), Julien (pour tes barbeuc' 🍖), Léo et Calie, je vous surkiffe tous ! Les moments passés avec vous sont toujours exceptionnels et je suis heureux de faire partie de votre si belle famille.

À ma famille que j'aime tant

(À mes animaux de compagnie : Elsa, Harry, Harold et la plus belle de tous les chats, Chacha. Même si vous ne savez pas lire, je vous fais une dédicace !)

À Lola, Line, et nos vacances d'été. Je suis fier des brillantes cousines que vous êtes et je n'ai aucun doute que vous vous épanouirez dans votre vie personnelle et professionnelle ! À Nathalie et Denis, que j'affectionne énormément, vous êtes des exemples d'optimisme et de bonne humeur.

À Julian, Clément, et Ethanaël pour nos inoubliables vacances à Lacanau Océan. Vous voir grandir chaque année fut un privilège et je suis fier des cousins que vous êtes. À mon oncle Guillaume et ton accent du sud, tes histoires drôles et ta bienveillance.

À mes cousins éloignés que j'aime, Marie-Anne, Jason, Pauline, et Jules. Aux éternels cousins Ricou Jean-Michel, Vincent, Daniel pour leur légèreté et leur humour sans fin.

À Charlotte, Francesco et Giulia, Juliette et Louis-Stéphane et Léopold, Michel et Barbara, malgré la distance, vous êtes de précieux soutien. La famille, c'est sacré !

À mes grands-parents, mamie Odette et ta force de vivre, mamie Lucette et ta force de caractère. À mes deux papys, Guy et René, j'aurais tellement aimé vous avoir avec moi aujourd'hui.

À Thomas mon grand frère (et Aurélie), nous sommes si différents mais si proches en même temps, et je sais que je pourrai toujours compter sur toi. Je t'aime fort.

À Papa et Maman, la vie est tellement plus simple grâce à vous. Merci de m'avoir toujours soutenu depuis le début de mes études de Médecine et de toujours croire en moi avec tant de force ! Grâce à vous, rien ne me semble impossible. Je vous aime plus que tout.

Enfin, à Manon, tu es de loin ma plus belle rencontre, ma force au quotidien. Ton attention me reconforte, ta douceur m'apaise, ta mémoire m'impressionne, tes tires me font rire, nos voyages nous rassemblent. Tu es toujours là pour moi, dans les bons comme dans les mauvais moments. Merci de me rendre tout simplement heureux. Je t'aime gros comme moi ♥.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	- 1 -
ABRÉVIATIONS	- 10 -
PARTIE 1 – GÉNÉRALITÉS	- 11 -
I. Épidémiologie et principes de prise en charge du cancer	- 11 -
II. Système immunitaire et immunosurveillance en oncologie	- 15 -
III. Immunothérapie en cancérologie	- 26 -
IV. Facteurs prédictifs de réponse à l’immunothérapie	- 33 -
V. Métabolisme du Tryptophane en oncologie	- 38 -
PARTIE 2 – ARTICLE ORIGINAL	- 40 -
I. Introduction.....	- 43 -
II. Methods	- 45 -
III. Results.....	- 48 -
IV. Discussion.....	- 52 -
V. Figures and tables	- 59 -
PARTIE 3 – REVUE DE LA LITTÉRATURE	- 72 -
I. Introduction.....	- 74 -
II. Immunomodulatory role of the Trp catabolism pathway in cancer.....	- 76 -
III. Clinical development of IDO1 inhibitors and Trp-Kyn-AhR pathway modulators.....	- 80 -
IV. Challenges and perspectives	- 85 -
V. Conclusion	- 88 -
VI. Figures and tables.....	- 97 -
PARTIE 4 – DISCUSSION	- 104 -
I. Article original.....	- 104 -
II. Article de revue.....	- 109 -
III. Conclusion	- 110 -
BIBLIOGRAPHIE	- 111 -
SERMENT D’HIPPOCRATE	- 118 -

ABRÉVIATIONS

ADCC: antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity / cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps

ADCP: antibody-dependent cellular phagocytosis / phagocytose cellulaire dépendante des anticorps

APC: antigen-presenting cell

CBNPC: carcinome bronchique non à petites cellules

CBPC: carcinome bronchique à petites cellules

CD: cellule dendritique

CMH/MHC: complexe majeur d'histocompatibilité/ major histocompatibility complex

CPA: cellule présentatrice d'antigène

CPS: combined positive score

CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte antigen4

dMMR: deficient mismatch repair

EBV: Epstein-Barr virus

Fc: fragment cristallisable

HHV8: human herpes virus 8

HPV: human papilloma virus

ICI: immune checkpoint inhibitor / inhibiteur de checkpoint immunitaire

IDO1/2: indoleamine 2,3-dioxygenase 1 / indoleamine 2,3-dioxygenase 2

Ig: immunoglobuline

IL: interleukine

INF- γ : interféron γ

irAE: immune-related adverse event

JEG: jonction œsogastrique

KIR: killer immunoglobulin-like receptor

LAG3: lymphocyte-activation gene 3

LDH: lactate dehydrogenase

LIF: leukemia inhibitory factor

LyB: lymphocyte B

LyT: lymphocyte T

MDSC: cellules suppressives dérivées des myéloïdes (myeloid-derived suppressor cell)

MMR: mismatch repair

MSI: microsatellite instability

NK: cellule tueuse naturelle (natural killer cell)

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

TCGA: The Cancer Genome Atlas

TCR: T cell receptor

TIM3: T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3

PD-1: programmed cell death protein 1

PD-L1: programmed cell death ligand 1

SIDA: syndrome d'immunodéficience acquise

TDO: tryptophan 2,3-dioxygenase

Teff: cellule T effectrice

TIL: tumor-infiltrating lymphocyte

TKI: tyrosine kinase inhibitor

TLS: tertiary lymphoid structure / structure lymphoïde tertiaire

TMB: tumor mutational burden

TPS: tumor positive score

TRAIL: tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand

Treg: lymphocyte T régulateur

VIH: virus de l'immunodéficience humaine

PARTIE 1 – GÉNÉRALITÉS

I. Épidémiologie et principes de prise en charge du cancer

1. *Épidémiologie*

La pathologie cancéreuse est de nos jours une maladie fréquente et représente un enjeu majeur de santé publique. En France, près de 400 000 cas de cancers toutes localisations confondues sont diagnostiqués chaque année (54% d'hommes et 46% de femmes), avec cependant un taux d'incidence qui baisse ou qui tend à se stabiliser (1). En parallèle, le nombre de décès par cancer est estimé à 160 000 par an (90 000 chez l'homme et 70 000 chez la femme), avec un taux de mortalité en baisse constante. Ainsi, la prévalence totale est de l'ordre de 3.8 millions de cas en 2017, une tendance à la hausse qui devrait se poursuivre dans les années à venir consécutive à l'amélioration de la survie (2). Dans le monde et selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le cancer représente la deuxième cause de mortalité après les maladies infectieuses, avec près de 19.3 millions de nouveaux cas et environ 10 millions de décès en 2020 (3). Selon les estimations de l'OMS, la charge mondiale du cancer devrait s'élever à 28.4 millions de cas en 2040, soit une hausse de 47 % par rapport à 2020, avec une augmentation plus importante dans les pays en développement (64% à 95%) par rapport aux pays développés (32% à 56%) en raison de l'évolution démographique (3,4).

Chez l'homme, le cancer de la prostate reste de loin le cancer le plus fréquent (environ 50 000 cas en 2015), devant le cancer du poumon et le cancer colorectal (environ 30 000 et 25 000 cas respectivement en 2018). En termes de mortalité, le cancer du poumon se situe au premier rang (environ 23 000 décès), loin devant le cancer colorectal et le cancer de la prostate (environ 9 000 et 8 000 décès respectivement). Chez la femme, le cancer du sein se situe en tête (environ 60 000 cas en 2018), devant le cancer colorectal et le cancer du poumon (environ 20 000 et 15 000 cas respectivement). De même, le cancer du sein est la première cause de

décès par cancer (environ 12 000 décès), devant le cancer du poumon et le cancer colorectal (10 000 et 8 000 décès respectivement).

Outre les évolutions démographiques et les changements de pratique diagnostique, des variations dans l'exposition aux facteurs de risque ont conduit à un doublement de l'incidence du cancer au cours des 30 dernières années (1). Ainsi, un certain nombre de cancers pourraient être évités. En effet, on estime en France qu'environ 41% des cancers chez les personnes de plus de 30 ans sont attribuables à des facteurs de risque modifiables, comme le tabagisme, la consommation d'alcool, l'alimentation, le surpoids et l'obésité, certains agents infectieux, certaines expositions professionnelles, et l'exposition aux ultraviolets naturels ou artificiels (5). Néanmoins, pour un certain nombre de cancers, les facteurs de risque relèvent encore du domaine de la recherche. Malgré la mise en place de mesures préventives à l'échelle collective, le diagnostic de cancer impose une prise en charge thérapeutique adaptée individuelle, en évolution constante ces dernières années.

2. Principes de prise en charge

Le traitement d'un cancer peut faire appel à plusieurs modalités thérapeutiques, isolément, simultanément ou successivement, et repose essentiellement sur la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, les thérapies dites ciblées et l'immunothérapie (**Figure 1**). À noter, les soins oncologiques de support ne sont pas réservés à la phase purement palliative de la fin de vie mais font partie intégrante de la prise en charge du malade dès le diagnostic. La décision thérapeutique ne peut donc reposer que sur une concertation multidisciplinaire entre les médecins de chaque spécialité. Hormis les soins de support, toutes ces interventions spécifiques visent à éliminer les cellules cancéreuses.

La chirurgie est la forme la plus ancienne de traitement des cancers et garde aujourd'hui encore une place essentielle. Utilisée dans environ 80% des cas toutes situations confondues, c'est bien souvent le premier traitement qui est proposé aux personnes chez qui un cancer a été diagnostiqué. Selon le contexte et le type histologique, elle vise la tumeur, les aires ganglionnaires du drainage lymphatique et

parfois les métastases. L'objectif est le contrôle de la maladie par l'exérèse du foyer pathologique en première intention ou après un traitement d'induction.

Malgré la découverte des rayons X par Wilhelm Röntgen en 1895, ce n'est que vers les années 1920-1930 que la radiothérapie, en tant que discipline de traitement anti-cancéreux, commence réellement à se structurer. De nos jours, plus de la moitié des personnes atteintes d'un cancer reçoivent ce type de traitement. Le but de la radiothérapie est d'utiliser les radiations ionisantes à visée thérapeutique, afin de détruire les cellules cancéreuses. La source d'énergie utilisée se situe à distance de la tumeur (radiothérapie externe) ou au contraire directement à son contact (curiethérapie interstitielle et endo-cavitaire).

Les premiers traitements anti-tumoraux systémiques ont principalement été développés dans la deuxième partie du XX^e siècle. La chimiothérapie anti-tumorale utilise des médicaments qui entraînent un arrêt du cycle cellulaire (effet cytostatique) et/ou une mort cellulaire (effet cytotoxique), principalement par apoptose. L'objectif est d'éliminer les cellules cancéreuses présentes dans l'organisme. Elle s'administre soit en phase curative (traitement adjuvant ou néoadjuvant) soit en phase métastatique. Les principales limitations sont la toxicité, souvent dose-limitante, et la survenue de résistance secondaire.

La compréhension des mécanismes de la cancérogenèse a permis de reconnaître de nouvelles cibles thérapeutiques dont la plupart interviennent physiologiquement dans la transduction des signaux de croissance cellulaire. Les thérapies ciblées peuvent agir sur les facteurs de croissance, sur leurs récepteurs ou sur des éléments à l'intérieur de la cellule, permettant de bloquer le développement ou la propagation tumorale en interférant avec un des mécanismes de la croissance du cancer ou une anomalie moléculaire spécifique d'un type de cancer. Souvent mieux tolérées que les chimiothérapies, les thérapies ciblées englobent de nombreuses classes de molécules, comme les anticorps monoclonaux, les inhibiteurs de récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase (*tyrosine kinase inhibitor* ou TKI) ou les hormonothérapies.

Alors que nous disposons depuis peu de plus en plus de connaissances fondamentales sur l'immunologie des tumeurs, une nouvelle approche thérapeutique

du cancer prend son essor : l'immunothérapie. Au lieu de s'attaquer directement aux cellules tumorales, l'objectif est d'aider le système immunitaire à les reconnaître afin de les détruire. Plusieurs stratégies sont d'ores et déjà utilisées dans le traitement de différents cancers, comme les anticorps monoclonaux et bispécifiques, les cytokines, les cellules thérapeutiques ou les vaccins, et les recherches en cours devraient permettre d'améliorer et d'étendre encore les possibilités.

Enfin, les essais cliniques sont à la base des développements de nouveaux produits qui deviendront potentiellement de nouveaux médicaments. L'avènement de nouvelles thérapies oblige à tester des combinaisons multiples (associations de molécules d'immunothérapie, de thérapie ciblée), combinaisons mixtes, traitements médicaux et radiothérapie, ce qui rend obligatoire l'établissement d'essais dits de stratégie pour mieux définir et appréhender les phases thérapeutiques successives d'une maladie.

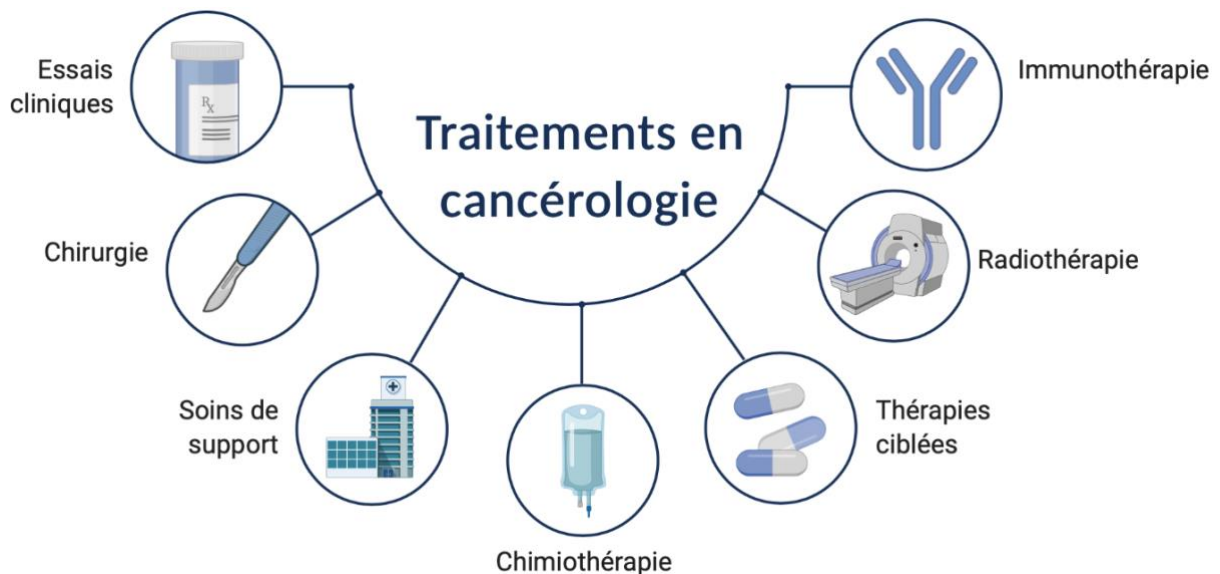


Figure 1. Principales modalités thérapeutiques en cancérologie.

II. Système immunitaire et immunosurveillance en oncologie

1. *Hallmarks of cancer*

Conceptualisée par Douglas Hanahan et Robert Allan Weinberg à l'aube du XXI^e siècle, la description fondatrice des caractéristiques du cancer (ou « *The Hallmarks of Cancer* ») comprend six capacités biologiques acquises au cours du développement multi étapes des tumeurs humaines (6). Ces caractéristiques constituent un principe d'organisation permettant de rationaliser la diversité et les complexités de la maladie néoplasique. Il s'agit notamment du maintien des signaux de prolifération cellulaire, de l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de la croissance, de la résistance à la mort cellulaire, de la réplication cellulaire infinie (ou immortalisation), de l'induction de l'angiogenèse et de l'activation de l'invasion tumorale et enfin, de la dissémination métastatique. Ces caractéristiques sont soutenues par l'instabilité du génome, qui génère la diversité génétique et accélère leur acquisition, et par l'inflammation, qui favorise les multiples fonctions de ces différentes capacités. Les progrès conceptuels réalisés au cours de la dernière décennie ont permis d'ajouter à cette liste deux nouvelles capacités distinctives fondamentales : la reprogrammation du métabolisme énergétique et l'échappement à la destruction par le système immunitaire (**Figure 2**).

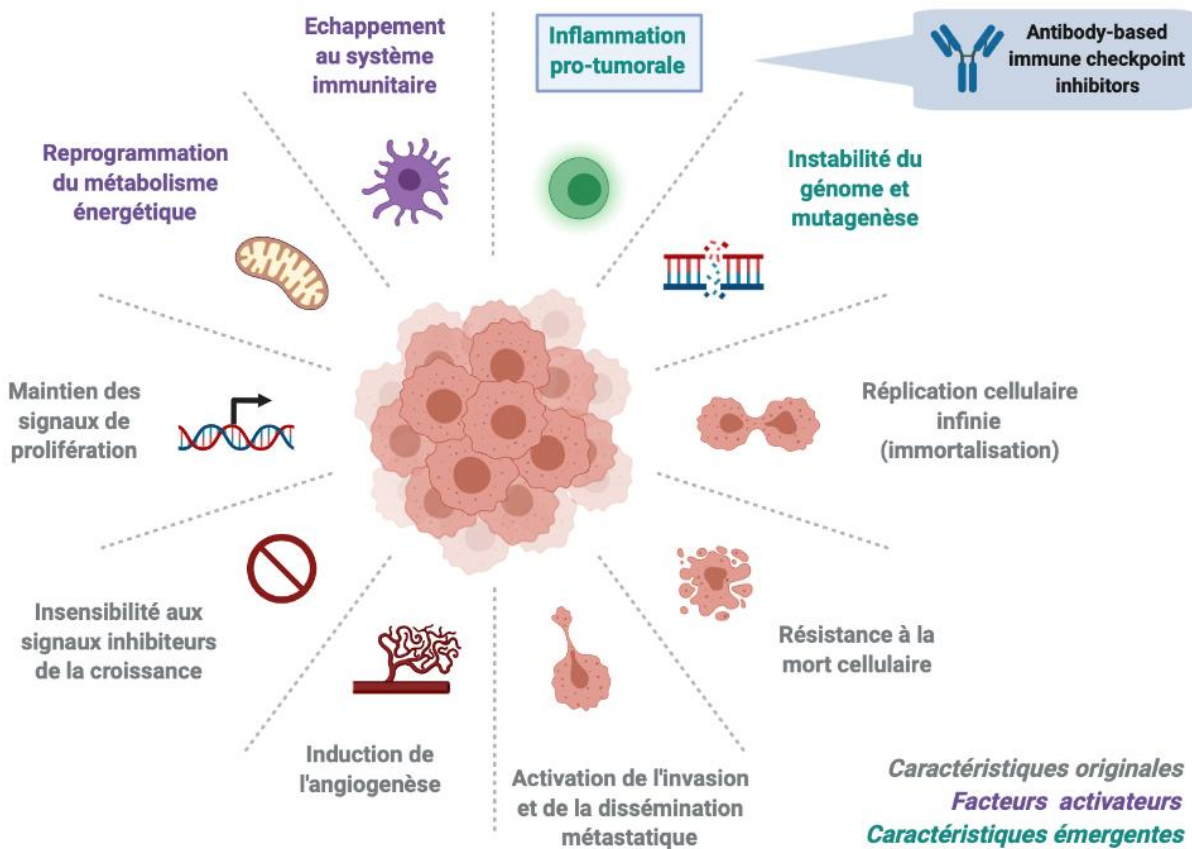


Figure 2. Principales caractéristiques du cancer et cibles thérapeutiques potentielles (d'après D. Hanahan and R. Weinberg, *Hallmarks of Cancer : The Next Generation*)(6).

Outre les cellules cancéreuses, les tumeurs présentent une autre dimension de complexité. Elles contiennent un ensemble de cellules recrutées, d'apparence normale, mais qui contribuent à l'acquisition des caractéristiques de la tumeur en créant le microenvironnement tumoral. En effet, la plupart des tumeurs solides sont constituées d'un assemblage de types cellulaires distincts. Le parenchyme et le stroma des tumeurs contiennent des types et sous-types de cellules qui, ensemble, permettent la croissance et la progression de la tumeur. En particulier, les cellules immunitaires présentes dans les tumeurs peuvent avoir un rôle anti-tumoral ou au contraire pro-tumoral (7). La reconnaissance et la compréhension de ces concepts ont grandement influencé le développement de nouveaux moyens de traiter le cancer, faisant entrer l'oncologie dans l'ère de l'immunothérapie.

2. Système immunitaire et concept d'immunosurveillance en cancérologie

De façon physiologique, le système immunitaire représente un système biologique constitué d'un ensemble coordonné d'éléments de reconnaissance et de défense qui discrimine le soi du non-soi. Hérité à la naissance, mais autonome, adaptatif et doué d'une grande plasticité, le système immunitaire évolue au cours du temps avec la rencontre de micro-organismes ou de substances environnementales étrangères au corps. Schématiquement, le système immunitaire se scinde habituellement entre le système immunitaire inné et le système immunitaire adaptatif. Le système immunitaire inné est essentiellement composé des cellules phagocytaires (macrophages), des neutrophiles et des cellules tueuses naturelles ou *natural killer* (NKs). Elles ont une activité de veille permanente au sein de l'organisme et sont responsables d'une défense immédiate contre les pathogènes. Les cellules du système immunitaire adaptatif sont les lymphocytes B (LyB, immunité humorale via la production d'anticorps) et les lymphocytes T (LyT, immunité cellulaire). La réponse immunitaire adaptative est plus lente à se mettre en place mais permet une reconnaissance fine du pathogène (spécificité antigénique) et la génération d'une mémoire immunologique. Ces 2 systèmes ont une action coopérative et interdépendante : l'activation du système immunitaire inné produit des signaux qui stimulent et orientent les réponses immunes adaptatives, qui, à leur tour, créent des signaux augmentant les réponses immunitaires innées.

L'idée de lutter contre le cancer en stimulant le système immunitaire est relativement ancienne. Elle a été émise dès la fin du XIX^e siècle par le chirurgien William Coley, qui avait observé une association entre la régression de sarcomes osseux et la survenue d'infections post opératoires à streptocoques pathogènes responsables d'érysipèles (8,9). L'hypothèse selon laquelle la réaction inflammatoire secondaire à une infection pourrait permettre un contrôle de la croissance tumorale a ouvert la voie à la théorie de l'immunosurveillance des tumeurs. Cette théorie a d'abord été énoncée par Paul Ehrlich au début du XX^e siècle, avant d'être reprise par Frank Macfarlane Burnet et Lewis Thomas (10–12). Ils ont suggéré que les profonds remaniements génétiques associés aux cellules cancéreuses conduisent, à la synthèse de néoantigènes qui les distinguent des cellules saines et sont capables d'induire des réactions immunitaires contre la tumeur. Ce concept

d'immunosurveillance a été revisité et démontré expérimentalement par Robert Schreiber avec la théorie d'*immunoediting* (processus d'immuno-sélection, **Figure 3**), qui stipule que l'interaction entre le système immunitaire et la tumeur comporte 3 phases principales : élimination, équilibre et échappement (13–15).

Le concept d'immunosurveillance correspond à l'action de notre système immunitaire qui surveille en continu les différentes cellules de notre organisme à la recherche de cellules cancéreuses. L'ensemble des composantes du système immunitaire, inné ou adaptatif, est impliqué dans ce processus triphasique. Tout d'abord, la phase d'élimination est une phase cellulaire, infraclinique, pendant laquelle le système immunitaire détecte la présence de cellules tumorales et les élimine précocement par l'action des cellules NK et les lymphocytes T (LyT) CD4 et CD8. Ceci permet l'éradication de certaines tumeurs avant même qu'elles ne deviennent cliniquement apparentes. Ensuite, lorsque ces cellules ne sont pas éliminées, on entre dans une phase d'équilibre pendant laquelle le système immunitaire maîtrise la prolifération des cellules tumorales sans pour autant les éradiquer. Les cellules tumorales sont maintenues dans un état de latence qui peut persister plusieurs années avant qu'une tumeur finisse par devenir cliniquement détectable. Cette période d'équilibre s'accompagne d'une sélection de clones tumoraux faiblement immunogéniques et résistants au système immunitaire : c'est la phase d'immuno-sélection (ou « *immunoediting* »). Enfin, durant la phase d'échappement, les cellules tumorales ont acquis la capacité de détourner la reconnaissance et/ou la destruction par le système immunitaire. Cela conduit au développement d'une tumeur cliniquement présente qui peut être détectée et prise en charge. Ainsi, le concept d'*immunoediting* conduit à envisager la possibilité que le système immunitaire exerce un contrôle des cellules cancéreuses dès les premiers stades de la croissance tumorale.

CANCER IMMUNOEDITING

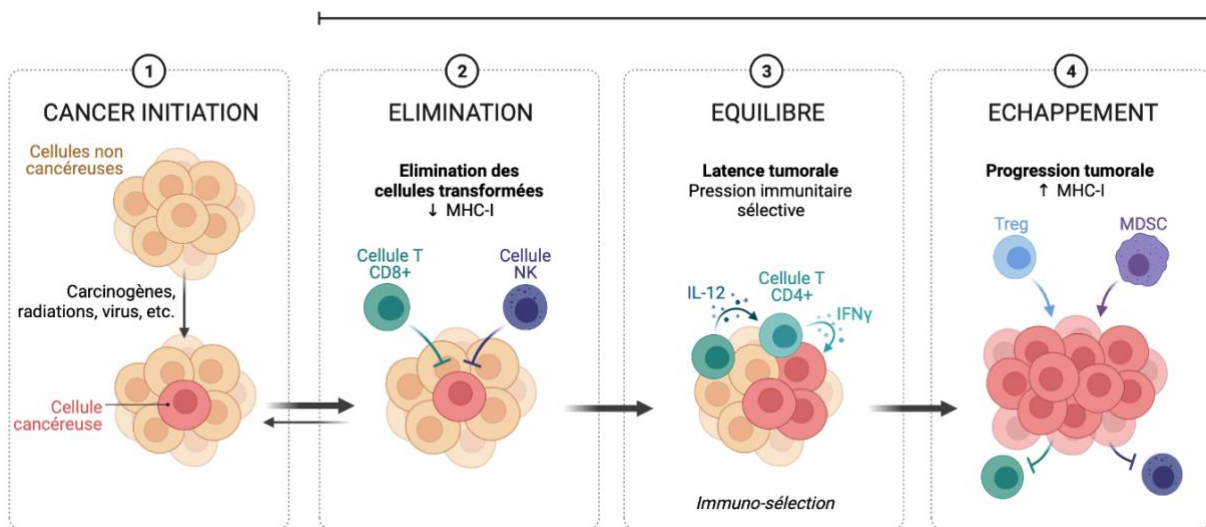


Figure 3. Concept d'immuno-sélection ou "immunoediting" (d'après R. Schreiber, *Cancer Immunoeediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion*)(15).

Jusque-là, le concept d'immunosurveillance s'appuyait sur des arguments expérimentaux, épidémiologiques ou anatomocliniques. Sur le plan expérimental, on observe effectivement une fréquence accrue de tumeurs spontanées chez les souris déficientes en cellules ou molécules clés pour l'immunité innée (cellules NK) ou pour l'immunité adaptative (lymphocytes B [LyB] et LyT, interféron γ [IFN- γ], etc.)(16–18). Par ailleurs, les données épidémiologiques chez les patients présentant un déficit immunitaire primaire d'origine génétique (par exemple, la trisomie 21 ou l'ataxie télangiectasie, etc.) ou acquis (par exemple, les traitements immunosuppresseurs, le stade SIDA de l'infection par le VIH, etc.) montrent une incidence augmentée des cancers aussi bien viro-induits (sarcome de Kaposi et HHV8, lymphomes et EBV, cancer du col et HPV) que non liés à des virus (leucémies, lymphomes, cancers bronchiques, etc.). Dans le cas de lymphomes survenant chez des patients sous immunosuppresseurs au long cours, l'arrêt de ces médicaments peut conduire à une régression tumorale spontanée, illustrant bien que les cellules tumorales étaient présentes de manière infraclinique chez le patient (phase d'équilibre), mais que le traitement immunosuppresseur a favorisé le développement tumoral en levant le contrôle du système immunitaire (phase d'échappement). Enfin, sur le plan clinique, la mise en évidence d'une réaction lymphocytaire T cytotoxique chez les patients présentant une régression spontanée de leur cancer du rein ou de leur mélanome

ainsi que la corrélation entre un infiltrat immunitaire et un bon pronostic pour certaines tumeurs a conforté le rôle clé du système immunitaire en oncologie (19,20).

3. Mécanismes clés de la réponse immunitaire anti-tumorale

3.1. Principaux effecteurs de l'immunité anti-tumorale

- *Les lymphocytes T*

Les LyT ont une reconnaissance spécifique de l'antigène tumoral grâce à leur récepteur, le TCR, qui reconnaît le peptide tumoral présenté sur le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH ou *MHC*). La lyse de la cellule tumorale par le LyT cytotoxique CD8 résulte de la libération de granules cytotoxiques préformés (contenant de la perforine, des granzymes, etc.) ou de l'expression de ligands qui vont activer des récepteurs de mort cellulaire présents à la surface de la cellule tumorale (Fas-ligand/Fas, TRAIL et ses récepteurs). Les LyT auxiliaires CD4 peuvent parfois présenter la même activité cytotoxique directe que les LyT CD8, mais leur rôle est le plus souvent indirect en orchestrant la réponse immunitaire (polarisation) via la sécrétion de cytokines : IL-2 et IFN- γ (polarisation Th1) favorisant la persistance des lymphocytes T CD8 anti-tumoraux, et IL-4 (polarisation Th2) orientant vers une production d'anticorps de haute affinité par les lymphocytes B.

- *Les lymphocytes B et les anticorps*

Même si le rôle anti-tumoral de la réponse humorale médiée par les LyB n'est pas clairement comprise, l'utilisation d'anticorps thérapeutique en cancérologie représente une avancée majeure. En fonction du type d'immunoglobuline sécrété par le LyB, plusieurs mécanismes sont potentiellement en jeu : la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), la phagocytose cellulaire dépendante des anticorps (ADCP) et l'activation du complément. En effet, lorsque l'anticorps se fixe sur la cellule tumorale, la partie constante de l'anticorps (appelée fragment cristallisable Fc) peut se fixer sur les récepteurs au fragment Fc présents sur les cellules NK ou sur les macrophages, qui, ainsi activés, peuvent entraîner la lyse (ADCC) ou la phagocytose (ADCP) de la cellule tumorale. Par ailleurs, la fixation d'anticorps à la surface de la cellule tumorale peut déclencher l'activation de la voie

classique de la cascade du complément. Cette cascade de réactions protéolytiques génère des composants actifs aboutissant à la destruction de la cellule tumorale : formation du complexe d'attaque membranaire capable de lyser la cellule tumorale et libération de substances chimiotactiques capables de recruter des effecteurs immunologiques anti-tumoraux.

- *Les cellules NK*

Contrairement aux LyT, les cellules NK ne possèdent pas de récepteur spécifique de l'antigène. Elles portent des récepteurs invariants appartenant à la famille des KIR (*killer immunoglobulin-like receptor*), dont l'interaction avec les molécules du CMH de classe I délivre un signal inhibiteur aux cellules NK. Ainsi, lorsque la cellule tumorale diminue son expression du CMH pour échapper aux LyT, la cellule NK n'est plus inhibée par son récepteur KIR, ce entraîne la lyse de la cellule tumorale via la libération de granules cytotoxiques préformés (granzymes, perforines). Par ailleurs, la cellule NK est aussi une clé pour l'ADCC via son récepteur au fragment constant des immunoglobulines (récepteur Fc).

3.2. *Le cycle de l'immunité anti-cancéreuse*

Les altérations génétiques et cellulaires définissant le cancer fournissent au système immunitaire les moyens de générer une réponse anti-tumorale (21). Les cellules tumorales synthétisent des protéines anormales (soient aberrantes non mutées, soient mutées) appelées néoantigènes (ou antigènes tumoraux) qui sont reconnues par le système immunitaire comme faisant partie du non soi. Pour qu'une réponse immunitaire conduise à une destruction efficace des cellules cancéreuses, une série d'évènements successifs est nécessaire, et ces évènements se développent et se produisent de manière itérative. Illustré par Daniel S. Chen et Ira Mellman en 2013, l'ensemble de la réponse immunitaire anti-tumorale est représenté par 7 étapes fondamentales qui constituent le cycle de l'immunité anti-cancéreuse (ou « *The Cancer-Immunity Cycle* », **Figure 4**)(22).

Durant la première étape, les néoantigènes créés par les mutations de l'oncogenèse sont libérés à partir des cellules cancéreuses mourantes et sont captés par les cellules présentatrices d'antigène (CPA), telles que les cellules dendritiques

(CDs) présentes dans le microenvironnement tumoral (étape 1). Suite à l'absorption de ces antigènes tumoraux, les CPA migrent vers les ganglions lymphatiques drainants pour présenter aux LyT naïfs des fragments antigéniques (appelés peptides tumoraux) apprêtés sur une molécule du CMH de classe I (présentation croisée ou cross présentation) ou de classe II (étape 2). L'initiation et l'activation du LyT naïf (appelée « *priming* ») se fait grâce à la reconnaissance du peptide tumoral dont le TCR du LyT est spécifique (étape 3). La nature de la réponse immunitaire médiée par le LyT est déterminée à ce stade et dépend de l'intégration d'un ensemble de signaux activateurs et inhibiteurs provenant de cellules et de molécules de costimulation. L'activation du LyT naïf dans le ganglion de drainage conduit à une expansion clonale des LyT effecteurs spécifiques de la tumeur et à l'expression de molécules d'adhérence cellulaire et de récepteurs aux chimiokines, nécessaires à leur circulation jusqu'au site tumoral (étape 4) et à leur infiltration au sein du microenvironnement tumoral (étape 5). Une fois les LyT présents au niveau du site tumoral, leur TCR reconnaît et se fixe spécifiquement aux cellules cancéreuses qui présentent à leur surface des peptides tumoraux associés à une molécule de CMH (étape 6). Là encore, l'activation du LyT résulte d'une balance de signaux activateurs et inhibiteurs issus de molécules de costimulation. Une fois pleinement activé, le LyT cytotoxique provoque la lyse de la cellule tumorale (étape 7). La destruction de la cellule cancéreuse entraîne le relargage d'antigènes tumoraux supplémentaires, ce qui permet de relancer le cycle de l'immunité anti-cancéreuse afin d'intensifier la réponse immunitaire anti-tumorale (**Figure 4**).

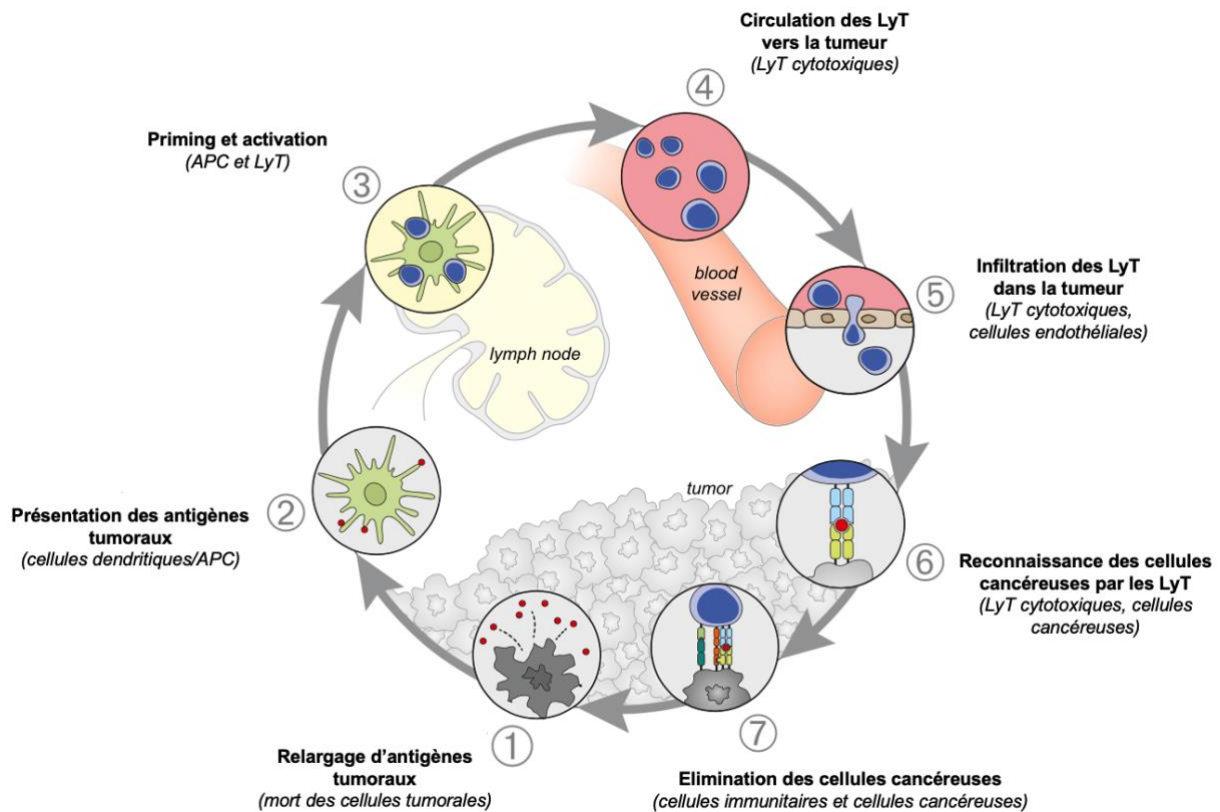


Figure 4. Le cycle de l'immunité anti-tumorale (d'après D. Chen and I. Mellman, *Oncology Meets Immunology : The Cancer-Immunity Cycle*)(22).

3.3. Régulation de la réponse immunitaire anti-tumorale : les checkpoints immunitaires

- *La costimulation positive*

Les LyT sont les principaux effecteurs de la réponse immunitaire anti-tumorale et leur activation nécessite un processus coordonné et progressif impliquant trois signaux principaux. L'interaction spécifique entre le TCR du LyT et le complexe CMH/peptide tumoral de la CPA est le premier signal activateur que reçoit le LyT naïf (signal 1). Cependant, bien que ce signal soit nécessaire, il n'est pas suffisant pour formellement activer le LyT, qui doit alors intégrer un ensemble de signaux activateurs et inhibiteurs provenant de molécules de costimulation. La liaison du CD28 exprimée à la surface du LyT avec ses ligands B7-1 (ou CD80) ou B7-2 (ou CD86) exprimés à la surface de la CPA fournit au LyT le deuxième signal nécessaire à son activation complète (signal 2). D'autres couples de ligands/récepteurs existent au sein de cette synapse immunologique et permettent eux aussi de délivrer ce

signal de danger. Enfin, le troisième signal d'activation, est nécessaire pour induire la prolifération clonale et la différenciation fonctionnelle des LyT via la production de cytokines activatrices, avec en particulier l'interleukine-2 (IL-2) par les CPA et les LyT eux-mêmes (signal 3)(23). Cependant, ces réponses immunitaires sont contrôlées par de multiples mécanismes et des molécules inhibitrices qui atténuent l'activation des LyT sont également exprimées. Ainsi, les signaux qui contrôlent l'immunité anti-tumorale et l'immunosuppression constituent un processus étroitement régulé qui forme le yin et le yang de la réponse immunitaire.

- *La costimulation négative*

Une fois activés, les LyT commencent à exprimer des récepteurs de surface cellulaire de costimulation négative appelés checkpoints immunitaires, tels que le CTLA-4 (*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4*) et le PD-1 (*Programmed cell Death protein 1*). Physiologiquement, ces checkpoints ont un rôle clé pour éviter l'emballement du système immunitaire contre le soi et pour limiter la durée et l'intensité de la réponse immunitaire.

Le CTLA-4 est une molécule inhibitrice qui est exprimée à la surface du LyT immédiatement après l'engagement du TCR. Le CTLA-4 intervient lors de l'initiation de la réponse immune dans les organes lymphoïdes, au niveau des LyT naïfs, mais aussi en périphérie, au niveau des LyT régulateurs (Tregs). Le CTLA-4 se lie au CD80/CD86 sur les CPA, mais avec une affinité nettement supérieure, ce qui entraîne une inhibition compétitive avec la costimulation du CD28 et empêche la poursuite de l'activation des LyT (24,25). Des études précliniques ont montré que l'utilisation d'anticorps anti-CTLA-4 dans des modèles *in vivo* prévient l'engagement du CTLA-4 avec les molécules CD80/CD86, ce qui conduit à des réponses cellulaires T prolongées et à l'éradication des cellules cancéreuses (26). Le blocage du CTLA-4 par des anticorps a ainsi été proposé comme un moyen d'améliorer, et potentialiser, les réponses immunitaires contre les cellules tumorales (**Figure 5**). Le développement d'anticorps anti-CTLA-4 à visée thérapeutique a ouvert la voie aux inhibiteurs de checkpoint immunitaires (ou *immune checkpoint inhibitors* ou ICIs). De plus, le succès des anti-CTLA-4 a conduit à l'identification d'autres voies qui régulent les réponses cellulaires T, y compris les voies de costimulation positive ou négative.

La principale fonction biologique de PD-1 est de maintenir la tolérance périphérique. La voie PD-1/PD-L1 régule l'activation lymphocytaire T au niveau périphérique ainsi qu'au sein du microenvironnement tumoral. Le PD-1 s'engage avec ses ligands PD-L1 et PD-L2, largement exprimés sur les tissus non lymphoïdes, ce qui freinent principalement l'activation des LyT en périphérie (27). Par conséquent, alors que le CTLA-4 inhibe le signal 2 (CD28-B7), PD-1/PD-L1 inhibe le signal 1 (TCR-MHC). L'expression de PD-L1 a été décrite sur de nombreux types de tumeurs, et est directement corrélée à un mauvais pronostic dans plusieurs cancers (28,29). Des modèles précliniques ont démontré que le blocage de PD-1 entraîne le rejet de la tumeur par la réactivation des LyT CD8 qui expriment des marqueurs d'exhaustion, tels que PD-1, LAG3 et TIM3, et la prolifération des LyT CD8 (30). Ainsi, l'utilisation d'anticorps thérapeutiques ciblant le PD-1 ou PD-L1 pourrait permettre de lever l'anergie des LyT anti-tumoraux.

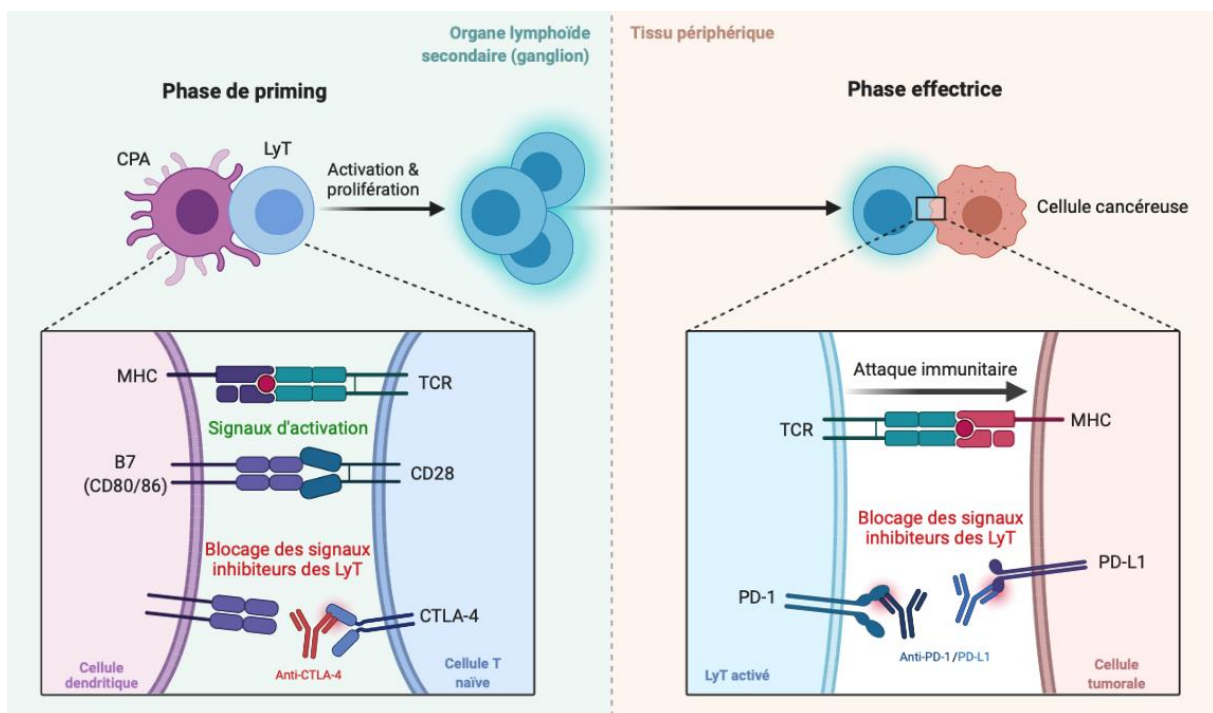


Figure 5. Mécanisme d'action et ciblage thérapeutique des checkpoints immunitaires (d'après L. Ding et F. Cheng, *Predicting tumor response to PD-1 blockade*)(31).

III. Immunothérapie en cancérologie

1. Une révolution thérapeutique

- *Mécanismes d'action des inhibiteurs de checkpoint*

Durant la dernière décennie, la découverte des inhibiteurs de checkpoint immunitaire (ICIs) qui régulent les réponses immunitaires anti-tumorales a transformé la prise en charge des cancers, offrant des réponses cliniques prolongées et la possibilité de guérir plus de patients avec une maladie métastatique. Bien que le CTLA-4 et le PD-1 soient des molécules inhibitrices qui atténuent l'activation des LyT, ils ont des mécanismes d'action différents, et l'inhibition de CTLA-4 et de PD-1 entraînent des réponses immunitaires distinctes.

Les anti-CTLA-4 ont pour fonction principale d'activer les LyT et d'accroître la diversité clonale en affectant principalement les CD4 au sein des organes lymphoïdes secondaires. De nombreuses études ont identifié une augmentation des LyT CD4 de type Th1 intra tumoraux et circulants à la suite d'un traitement par anti-CTLA-4 (32–34). Les anti-CTLA-4 peuvent également favoriser l'infiltration des LyT cytotoxiques au sein des tumeurs immunologiquement « froides », c'est-à-dire dépourvues des effecteurs de l'immunité anti-tumorale (35,36). En général, le blocage du CTLA-4 augmente les LyT CD4 effecteurs avec une élévation du ratio LyT effecteurs (Teffs)/LyT régulateurs (Tregs) dans les tumeurs présentant une réponse au traitement (37–40). Les anticorps anti-PD-1/PD-L1 affectent principalement les LyT CD8 épuisés (*“exhausted”*), et cela sans accroître la diversité clonale ou favoriser l'infiltration immunitaire tumorale (41). Enfin, des études précliniques ont montré que le ciblage simultané de CTLA-4 et de PD-1/PD-L1 améliore la réponse immunitaire anti-tumorale et l'efficacité thérapeutique comparativement à la monothérapie dans des modèles murins (42–44). Ainsi, les anticorps monoclonaux ciblant CTLA-4, PD-1 et PD-L1 ont constitué la base d'une immunothérapie efficace chez les patients atteints de cancer et sont maintenant largement utilisés en clinique pour un certain nombre de types tumoraux.

- *Indications des inhibiteurs de checkpoints*

Aux États-Unis, plus de 50 ICIs sont désormais approuvés en pratique clinique dans de multiples types de cancer (**Tableau 1**). En France, il y a maintenant une vingtaine d'indications pour la prescription de ces anticorps monoclonaux.

En 2011, l'anti-CTLA-4 ipilimumab a été le premier ICI à être utilisé dans le mélanome métastatique, sur la base d'essais de phase III démontrant une amélioration de la survie globale en comparaison au vaccin ou à la chimiothérapie (45,46). En effet, environ 20% des patients ayant reçu l'ipilimumab ont obtenu une survie à long terme de plus de 3 ans, avec une survie de presque 10 ans pour certains patients (47). Bien que l'ipilimumab reste le seul anti-CTLA-4 à avoir été approuvé, d'autres anticorps monoclonaux sont à l'étude, notamment le tremelimumab et le quavonlimab (48).

En 2014, les premiers inhibiteurs de PD-1 ont aussi été approuvés pour le traitement du mélanome non résecable ou métastatique (49,50). Les anti-PD-1/PD-L1 sont désormais utilisés pour le traitement de multiples types de tumeurs en phase localisée ou métastatique, notamment les cancers de la peau, génito-urinaires, pulmonaires, de la tête et du cou, des lymphomes, gynécologiques et digestifs. Les anticorps anti-PD-1 comprennent le nivolumab (IgG4 humaine), le pembrolizumab (IgG4 humanisée), et le cemiplimab (IgG1 κ humaine). Les anticorps anti-PD-L1 sont représentés par le durvalumab (IgG1 κ humaine), l'atezolizumab, (IgG1 humanisée) et l'avelumab (IgG1 humaine). Les thérapies anti-PD-1 ont également été approuvées pour le traitement de patients dont les tumeurs présentent une instabilité des microsatellites (*microsatellite instability-high* ou MSI-high)/une déficience de la réparation des mésappariements (*deficient mismatch repair* ou dMMR) ou une charge mutationnelle élevée (*tumor mutational burden-high* ou TMB-high), quel que soit le type de tumeur (51–53). Malgré des taux de réponse prometteurs obtenus avec les ICIs en monothérapie, les survies prolongées ne sont observées que chez une minorité de patients.

La recherche de l'amélioration de l'efficacité de ces traitements a conduit à des combinaisons d'ICIs ou à des associations avec d'autres médicaments anti-cancéreux. A ce jour, de multiples essais cliniques portant sur le blocage combiné de

CTLA-4 et PD-1/PD-L1 ont montré des taux de réponses plus élevés et des survies prolongées par rapport à l'une ou l'autre des monothérapies, dans différents types de cancer métastatique, tels que le mélanome et le cancer du rein (54,55). Visant à moduler le microenvironnement tumoral immunosuppresseur et favoriser le relargage des antigènes tumoraux, l'association d'une chimiothérapie simultanée et/ou séquentielle avec un ICI a démontré un avantage en termes de survie sans progression et de survie globale dans divers types de tumeurs, notamment les cancers du poumon, urothéliaux et de la tête et du cou (56–60). De même, la combinaison d'un ICI avec une thérapie ciblée, tels que les anti-angiogéniques, a montré des taux de réponse encourageants dans le mélanome BRAF muté, le cancer de l'endomètre, le cancer du rein ou le carcinome hépatocellulaire (61–64). Bien que ces thérapies combinées offrent la possibilité d'améliorer les résultats des ICIs, elles restent limitées à des types de tumeurs et des contextes pathologiques spécifiques, et s'accompagnent d'un risque accru de développer des toxicités.

Stratégie	Cible	Molécule	Indication	Année		
Monothérapie	Anti-CTLA-4	Ipilimumab	Mélanome non résecable ou métastatique	2011		
			Mélanome de risque élevé stade III avec résection complète (adjuvant)	2015		
			Mélanome non résecable ou métastatique chez l'enfant de plus de 12 ans	2017		
	Anti-PD-1	Nivolumab	Mélanome non résecable ou métastatique	2014		
			CBNPC de type épidermoïde métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2015		
			CBNPC de type non-épidermoïde métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2015		
			Cancer du rein métastatique après une 1e ligne de traitement	2015		
			Lymphome de Hodgkin en progression ou en rechute après autogreffe et brentuximab vedotin ou après au moins 3 lignes de traitement	2016		
			Carcinome épidermoïde de la tête et du cou en rechute ou métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2016		
			Cancer urothélial avancé ou métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2017		
			Cancer colorectal MSI-high ou dMMR de l'enfant ou de l'adulte métastatique en progression après une 1e ligne de chimiothérapie	2017		
			Carcinome hépatocellulaire prétraité par sorafénib	2017		
			Mélanome avec atteinte ganglionnaire ou métastatique après résection complète	2017		
			Carcinome épidermoïde de l'œsophage avancé ou métastatique en rechute après une 1e ligne par fluoropyrimidine et sels de platine	2020		
			Cancer du rein avancé en combinaison avec le cabozantinib	2021		
			Anti-PD-1	Pembrolizumab	Mélanome non résecable ou métastatique en progression après toutes les autres lignes de traitement	2014
					CBNPC métastatique avec PD-L1 positif en progression après une 1e ligne de traitement	2015
					Mélanome non résecable ou métastatique	2015
					Carcinome épidermoïde de la tête et du cou en rechute ou métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2015
					CBNPC métastatique avec PD-L1 élevé sans addiction oncogénique	2016
					Lymphome de Hodgkin en progression ou en rechute après au moins 2 lignes de traitement	2017
	CBNPC métastatique de type non épidermoïde en combinaison avec carboplatine/pemetrexed	2017				
	Cancer urothélial avancé ou métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine ou inéligible	2017				
	Cancer colorectal MSI-high ou dMMR de l'enfant ou de l'adulte métastatique	2017				
	Cancer de l'estomac ou de la JEG avec PD-L1 positif en progression après au moins 2 lignes de traitement	2017				
	Cancer du col en rechute ou métastatique avec PD-L1 CPS ≥ 1 après au moins 1 ligne de traitement	2018				
	Lymphome B de primitif médiastinal réfractaire ou en rechute après au moins 2 lignes de traitement	2018				
	CBNPC métastatique de type non épidermoïde en combinaison avec sels de platine/pemetrexed	2018				
	CBNPC métastatique de type épidermoïde en combinaison avec sels de platine/taxanes	2018				
	Carcinome hépatocellulaire prétraité par Sorafénib	2018				
	Carcinome de Merkel localement avancé en rechute ou métastatique	2018				
	Mélanome avec atteinte ganglionnaire après résection complète	2019				
	CBNPC avancé ou métastatique avec PD-L1 TPS $\geq 1\%$	2019				
	Cancer du rein avancé en combinaison avec l'axitinib	2019				
	Carcinome épidermoïde de la tête et du cou non résecable ou métastatique en rechute avec PD-L1 CPS ≥ 1	2019				
	Carcinome épidermoïde de la tête et du cou non résecable ou métastatique en rechute en combinaison avec fluoropyrimidine et sels de platine	2019				
CBPC métastatique en progression pendant ou après une 1e ligne par sels de platine	2019					

			Carcinome épidermoïde de l'œsophage localement avancé ou métastatique avec PD-L1 CPS ≥ 10 après au moins 1 ligne de traitement	2019
			Cancer de l'endomètre avancé non-MSI-high/dMMR en progression après 1 ligne de traitement en combinaison avec le lenvatinib	2019
			Carcinome de vessie non infiltrant la musculature à haut risque avec in situ non éligible pour cystectomie	2020
			Carcinome épidermoïde cutané en rechute ou métastatique non opérable	2020
			Tumeurs solides non résécables ou métastatiques avec TMB élevé (≥10 mut/Mb) en progression après 1 ligne de traitement	2020
			Cancer colorectal MSI-high ou dMMR en 1e ligne	2020
			Cancer du sein triple négatif non résécable ou métastatique avec PD-L1 CPS ≥ 10 en combinaison à la chimiothérapie	2020
		Cemiplimab	Carcinome épidermoïde cutané en rechute ou métastatique non opérable	2018
		Durvalumab	CBNPC stade III non résécable et non progressif après un traitement par radiochimiothérapie concomitante par sels de platine	2018
			CBPC métastatique en combinaison avec étoposide et sels de platine	2020
			Cancer urothélial avancé ou métastatique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2016
			CBNPC métastatique sans addiction oncogénique en progression pendant ou après chimiothérapie à base de sels de platine	2016
			Cancer urothélial localement avancé ou métastatique avec PD-L1 positif non éligible pour de la chimiothérapie par cisplatine	2017
			CBNPC de type non-épidermoïde métastatique en combinaison avec bevacizumab/paclitaxel/carboplatine	2018
		Atezolizumab	CBPC métastatique en combinaison avec étoposide/carboplatine	2019
			Cancer du sein triple négatif localement avancé ou métastatique avec PD-L1 ≥1% en combinaison avec le nab-paclitaxel	2019
			CBNPC métastatique sans addiction oncogénique en combinaison avec carboplatine/nab-paclitaxel	2019
			CBNPC métastatique avec PD-L1 élevé (cellules tumorales ≥ 50%ou cellules immunitaires ≥ 10%) sans addiction oncogénique	2020
			Carcinome hépatocellulaire non résécable ou métastatique en combinaison avec le bevacizumab	2020
			Mélanome non résécable ou métastatique BRAF V600E muté en combinaison avec vemurafenib/cobimetinib	2020
		Avelumab	Carcinome de Merkel localement avancé en rechute ou métastatique de l'enfant ou de l'adulte	2017
			Cancer urothélial avancé ou métastatique en progression après une chimiothérapie à base de sels de platine	2017
			Cancer du rein avancé en combinaison avec l'axitinib	2019
			Cancer urothélial avancé ou métastatique non progressif après une chimiothérapie à base de sels de platine (maintenance)	2020
Combinaison	Anti-CTLA-4 + anti-PD-1	Ipilimumab et nivolumab	Carcinome épidermoïde cutané en rechute ou métastatique non opérable	2018

* **Abréviations** : CBNPC: carcinome bronchique non à petites cellules; CBPC: carcinome bronchique à petites cellules; CPS: combined positive score; dMMR: deficient mismatch repair; JEG: jonction œsogastrique; MSI: microsatellite instability; PD-L1: programmed cell death ligand 1; TMB: tumor mutational burden; TPS: tumor positive score.

Tableau 1. Inhibiteurs des checkpoints immunitaires approuvés en clinique aux États-Unis (d'après P. Sharma et J.P. Allison, *The Next Decade of Immune Checkpoint Therapy*)(65).

- *Toxicités des checkpoints immunitaires*

L'obtention d'une réponse tumorale, voire la rémission d'un cancer métastatique, se fait souvent au prix d'une toxicité immunologique pouvant concerner tous les organes (**Figure 5**). La rupture de tolérance induite par les ICI ne se limite pas à la tumeur, et ces derniers sont susceptibles d'induire des mécanismes de dysimmunité par perte de tolérance vis-à-vis d'auto-antigènes. Ces complications ont été décrites sous le nom *immune-related adverse events* (irAEs). De nombreux événements de ce type ont été observés après utilisation des anticorps anti-CTLA-4, puis avec les anticorps anti-PD-1/PD-L1 et leur combinaison (66,67). Les manifestations dysimmunitaires induites diffèrent selon le type d'ICI utilisé, en raison de mécanismes d'action différents, et survient généralement dans les 3 à 6 premiers mois après l'initiation du traitement. Bien que les irAEs puissent concerner tous les organes, les premières données de rupture de tolérance, issues des essais cliniques, ont révélé essentiellement des atteintes dermatologiques et digestives, suivies d'atteintes endocriniennes qui sont parmi les plus fréquentes (68). La compréhension, la reconnaissance et le traitement précoces des irAEs sont essentiels pour prévenir la progression vers des événements graves, et des efforts importants sont en cours pour développer des biomarqueurs permettant de prédire plus tôt les irAEs ou bien de mieux sélectionner les patients (69).

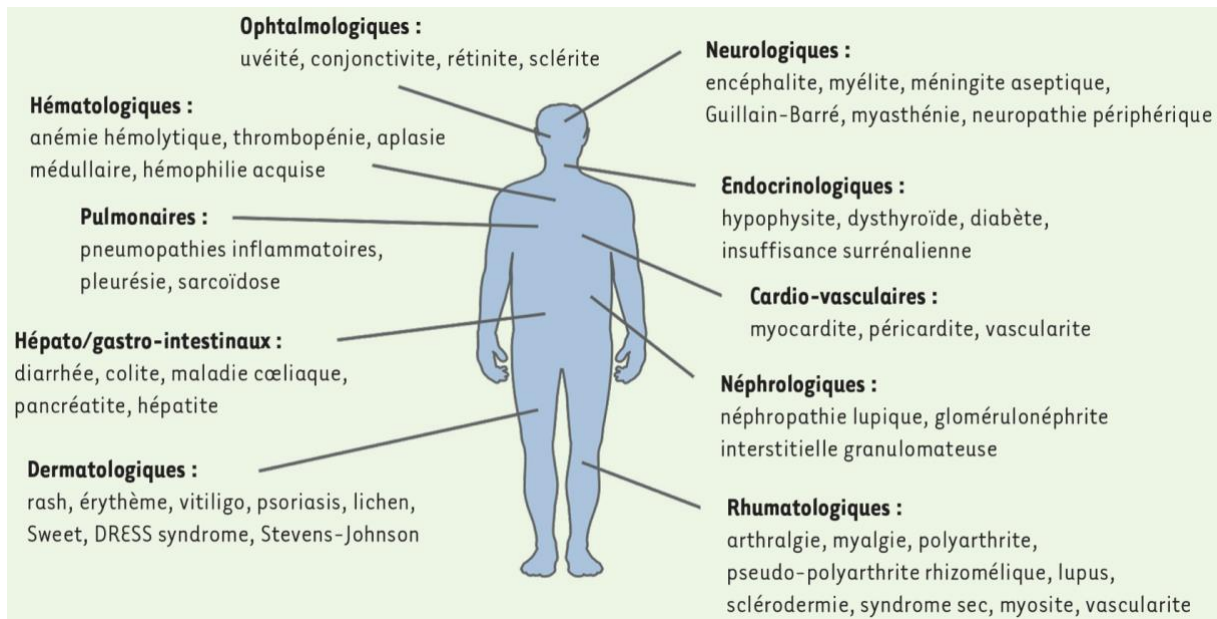


Figure 5. Spectre des effets secondaires immunologiques observés sous inhibiteurs de checkpoint immunitaire (d'après M. Kostine, *Les limites des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire et la gestion de leur toxicité*)(70).

2. Identification des patients répondeurs

Identifier les patients qui répondent aux traitements par ICIs est une nécessité absolue. Il en va de l'efficacité de la prise en charge et de l'éthique, en évitant des pertes de chance pour le patient et des effets indésirables inutiles. Mais c'est également une nécessité économique. Par exemple, un traitement complet par ICIs coûte environ 75 000 euros par an et par malade. Ces coûts posent évidemment des problèmes d'accès et de prise en charge, en particulier parce qu'ils ne sont efficaces que chez une fraction des patients et qu'ils n'apportent pas toujours un bénéfice majeur. Par conséquent, il existe un intérêt pour l'identification et le développement de biomarqueurs prédictifs de la réponse aux ICIs, à la fois pour permettre une personnalisation de l'immunothérapie anti-cancéreuse, mais aussi pour mieux comprendre et surmonter les mécanismes de résistance.

IV. Facteurs prédictifs de réponse à l'immunothérapie

Un facteur prédictif de réponse est défini par un marqueur ou une combinaison de marqueurs, cliniques et/ou biologiques et/ou radiologiques, capables de prédire la réponse à un traitement. Dans la littérature, deux approches sont utilisées : la première consiste à identifier des marqueurs avant toute exposition au traitement ; la seconde consiste à mesurer les fluctuations de tel ou tel marqueur avant et après un certain temps d'exposition au traitement. Dans le premier cas, il s'agit de vrais marqueurs de prédiction, puisqu'ils annoncent une réponse future ou une non-réponse ; dans le second cas, les mesures reflètent davantage les effets directs ou indirects du traitement chez les patients répondeurs ou non.

L'un des principaux défis dans le domaine des ICIs est l'absence d'un biomarqueur prédictif robuste permettant une sélection optimale des patients. L'identification de biomarqueurs s'est principalement concentrée sur les facteurs intrinsèques aux tumeurs ou sur des marqueurs immuno-spécifiques uniques, dont certains sont utilisés en pratique clinique (71).

1. Facteurs prédictifs usuels

- *Expression tumorale ou immunitaire de PD-L1*

L'évaluation en immunohistochimie de l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales et/ou immunitaires est fréquemment réalisée pour sélectionner les patients à traiter avec des anticorps anti-PD-1/PD-L1. Une corrélation entre l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales et la réponse clinique aux ICIs est observée dans certaines circonstances, comme le cancer bronchique non à petites cellules (72,73). Cependant, dans d'autres cas, des réponses substantielles peuvent être observées chez certains patients avec des tumeurs PD-L1 négatives, ce qui met en évidence la difficulté d'utiliser l'expression de PD-L1 comme biomarqueur unique (72,74). De plus, l'expression de PD-L1 est dynamique en raison de multiples facteurs, notamment les réponses des cellules T et la signalisation IFN- γ , ce qui peut influencer la détection ou non de l'expression de PD-L1 dans le temps. Enfin, il existe une diversité dans les techniques de détection, ce qui limite l'utilisation du PD-L1

comme biomarqueur isolé, et des travaux sont en cours pour intégrer l'expression du PD-L1 avec d'autres marqueurs.

- *Charge mutationnelle et néoantigènes*

L'association entre une charge mutationnelle élevée et une réponse aux ICIs a été observée dans de nombreux types de cancer, notamment le mélanome et le cancer du poumon (53,75). Biologiquement, un TMB élevé peut contribuer à la formation de néoantigènes reconnus par le système immunitaire et ainsi influencer la réponse aux ICIs (76,77). À partir d'une approche agnostique, le pembrolizumab a été approuvé aux États-Unis pour le traitement des tumeurs solides avancées de l'enfant et de l'adulte qui ont un TMB élevé, défini par au moins 10 mutations par mégabase (mut/mB). Cependant, le TMB demeure un biomarqueur imparfait pour prédire la réponse à l'immunothérapie. En effet, certaines types de tumeurs avec un TMB faible ou modéré présentent des taux de réponse élevés aux ICIs, comme le cancer du rein (78,79). À l'inverse, un TMB élevé ne garantit pas la génération de réponses antigéniques efficaces, ce qui impose une meilleure compréhension de l'immunogénicité selon le type de mutation observé (80–82).

- *Voies de réparation des dommages à l'ADN : MSI-high et dMMR*

Il existe des liens fondamentaux entre les lésions de l'ADN et l'immunogénicité. En effet, les tumeurs qui présentent des défauts de réparation des dommages de l'ADN, illustrés par le statut MSI-high/dMMR, portent une charge mutationnelle élevée en raison de leurs taux élevés de formation de néoantigènes, et donc répondent plus favorablement aux ICIs (83,84). Une première étude menée chez des patients atteints de cancer colorectal a démontré des taux de réponse au pembrolizumab significativement plus élevés chez les patients dMMR/MSI-high par rapport aux patients MMR-proficients, une constatation qui a ensuite été étendue à plusieurs types de tumeurs (51,52). Ces données ont conduit à l'approbation du pembrolizumab pour les tumeurs solides MSI-high/dMMR. Cependant, le statut MSI-high/dMMR reste un biomarqueur imparfait de la réponse aux ICIs.

2. Facteurs prédictifs exploratoires

- *Infiltrat lymphocytaire intra tumoral*

L'infiltrat lymphocytaire de la tumeur, représenté par les *tumor-infiltrating lymphocytes* (TILs), joue un rôle prépondérant dans la réponse à l'immunothérapie. Les TILs font l'objet d'une recherche active en tant que biomarqueurs pour guider la sélection des patients à traiter par ICIs, bien qu'il existe une variabilité importante dans les définitions et les seuils (41,85). Même si les patients avec un fort taux de TILs semblent présenter une meilleure réponse aux ICIs, la variabilité de l'infiltration et de localisation des cellules immunitaires dans les différents types de tumeurs ainsi que son applicabilité à tous les cancers sont difficiles (86–88). Différentes études ont montré que l'exclusion des LyT à la périphérie de la tumeur ou leur absence étaient associées à une résistance aux ICIs, illustrant le concept de tumeur « froide » comme dans le cancer de la prostate ou du pancréas qui ont peu de cellules T dans leur microenvironnement (89,90). Ainsi, la sélection des patients pour le traitement par ICIs et les stratégies pour surmonter l'exclusion des Ly T dans le microenvironnement tumoral devront être prises en compte dans les futurs essais d'immunothérapie.

- *Structures lymphoïdes tertiaires*

Les structures lymphoïdes tertiaires (*tertiary lymphoid structure* ou TLS) ont récemment été décrites comme de potentiels biomarqueurs de la réponse aux ICIs dans plusieurs types de tumeurs, notamment le cancer du poumon, les cancers de la tête et du cou, le mélanome, le cancer colorectal, le cancer urothélial et les sarcomes (91–97). De plus, une récente étude a retrouvé une association entre la présence de TLS matures et l'efficacité des ICIs dans 3 cohortes de patients atteints de tumeurs solides, et cela indépendamment de l'expression de PD-L1, ouvrant la voie à l'utilisation des TLS comme possibles biomarqueurs de réponse aux ICIs (98). Composés de LyT, LyB, de CD et d'autres CPA, les TLS peuvent jouer un rôle important dans les réponses anti-tumorales cellulaires et humorales dans le microenvironnement tumoral. Cependant, les mécanismes qui conduisent à la formation des TLS et leur rôle dans la réponse aux ICIs restent encore méconnus.

- *Signature du gène de l'IFN- γ*

L'IFN- γ est une cytokine clé produite par les LyT activés, ainsi que par les cellules NK, et est essentielle pour une immunité anti-tumorale efficace. Les patients atteints de mélanome avec des défauts génomiques dans les gènes de la voie de l'IFN- γ ne présentaient pas de réponse aux anti-CTLA-4. De même, les patients atteints de mélanome présentant des mutations perte de fonction de JAK1 et JAK2, molécules de signalisation en aval de l'IFN- γ , étaient résistants au traitement par anti-PD-1, ce qui souligne l'utilité de l'IFN- γ comme biomarqueur potentiel (99). L'IFN- γ induit une multitude de gènes cibles qui ont été utilisés pour développer des signatures d'expressions géniques, en corrélation avec les réponses aux ICIs. De nombreuses études ont rapporté que les tumeurs identifiées comme ayant une expression élevée des gènes de la voie de l'IFN- γ présentent de meilleures réponses cliniques aux ICIs (100,101). Cependant, les panels de gènes pour concevoir les signatures génomiques étaient hétérogènes et d'autres études sont en cours pour développer des tests reproductibles pour la détection des gènes et signatures liés à l'IFN- γ qui pourraient être utilisés comme biomarqueurs pour la sélection des patients traités par ICIs.

- *Biomarqueurs circulants*

Idéalement, les biomarqueurs doivent être évaluables de manière peu invasive en pratique clinique. Ainsi, le développement de biomarqueurs prédictifs de la réponse aux ICIs, dérivés du sang total ou du sérum, suscite un grand intérêt. Par exemple, un ratio neutrophiles/lymphocytes élevé dans le sang périphérique était associé à une survie prolongée dans de multiples études évaluant les anti-CTLA-4 et les anti-PD-1 dans un large éventail de types de cancer (102–105). De multiples autres biomarqueurs circulants ont été associés à la réponse aux ICIs, notamment le nombre total de LyT, la clonalité des LyT, le nombre de Tregs, de monocytes et de MDSCs circulants, les taux de cytokines (par exemple, IL-6, IL-8 et IL-10), le taux de lactate déshydrogénase (LDH) et d'autres protéines circulantes, tel que le LIF (106,107). Cependant, l'utilisation de ces biomarqueurs en pratique clinique reste limitée.

- *Rôle du métabolisme sur l'immunité anti-tumorale*

Le microenvironnement métabolique des tumeurs peut constituer un milieu immunosuppresseur qui atténue les réponses immunitaires anti-tumorales et participe à la résistance aux ICIs (108). Les différents types de cellules qui coexistent dans le microenvironnement tumoral, y compris les cellules stromales et immunitaires, ont des exigences métaboliques distinctes. En particulier, cet environnement hostile oblige les cellules tumorales et immunitaires infiltrées à subir des adaptations métaboliques associées à des phénotypes tolérants sur le plan immunologique. Ce microenvironnement est souvent caractérisé par une concurrence entre les nutriments essentiels, un pH faible, une hypoxie et une accumulation de multiples métabolites. Les cellules cancéreuses libèrent des métabolites qui peuvent stimuler les cellules immunitaires immunosuppressives ainsi qu'inhiber la fonction des LyT CD8 cytotoxiques, en partie, en limitant les nutriments, en particulier les acides aminés (109). En effet, les acides aminés fournissent des composants et des substrats pour une variété de processus critiques dans le métabolisme et la physiologie des cellules. Bien que chaque acide aminé joue de multiples rôles spécifiques, la glutamine, l'arginine et le tryptophane ont été décrits comme modulant à la fois la progression des tumeurs et l'immunité anti-tumorale (109). Une meilleure compréhension entre le métabolisme spécifique à la tumeur et la réponse aux ICIs pourrait permettre d'améliorer l'efficacité de l'immunothérapie anti-cancéreuse.

V. Métabolisme du tryptophane en oncologie

1. Physiologie de la voie du tryptophane

Le tryptophane (Trp) est l'acide aminé essentiel le moins abondant, et son approvisionnement chez l'Homme est exclusivement couvert par l'apport alimentaire. Le Trp est important non seulement pour la synthèse des protéines mais aussi en tant que précurseur de divers composés biologiquement actifs. La majorité du Trp libre est métabolisée par la voie de la kynurénine (Kyn), générant des métabolites ayant des fonctions cruciales dans la neurotransmission et la régulation des réponses immunitaires (110).

La première étape de cette voie de dégradation du Trp peut être catalysée par l'indoleamine 2,3-dioxygénase 1 (IDO1), l'IDO2 ou la tryptophane 2,3-dioxygénase (TDO). Ces enzymes catalysent le clivage oxydatif de la partie indole du Trp, ce qui conduit à la formation de la N-formyl-L-kynurénine, qui, dans une étape ultérieure, est dégradée en Kyn ainsi que d'autres métabolites en aval.

2. Rôle immunomodulateur en cancérologie

L'importance du catabolisme de Trp dans l'induction de la tolérance immunitaire a été initialement établie dans le placenta, où il a été démontré que l'IDO1 empêchait le rejet du fœtus (111). Ces mécanismes responsables de la tolérance du soi sont exploités par les tumeurs pour échapper à l'immunosurveillance. IDO1 exerce sa fonction immunosuppressive en favorisant la formation des Tregs et de MDSCs, tout en supprimant la prolifération et la fonction des Teffs et des cellules NKs (112–114). Dans une moindre mesure, il a également été démontré que le TDO diminue les réponses immunitaires anti-tumorales de manière similaire (115).

En raison du rôle du catabolisme du Trp dans la promotion de la suppression immunitaire, plusieurs inhibiteurs de petites molécules ciblant le catabolisme du Trp ont été développés et sont actuellement testés dans des essais cliniques (116,117). De plus, les essais cliniques combinant les inhibiteurs de IDO1 avec d'autres immunothérapies, telles que les inhibiteurs de PD-1/PD-L1, ont suscité de grands

espoirs dans le domaine de l'immuno-oncologie par leur action synergique permettant de restaurer les réponses immunitaires anti-tumorales.

3. Potentiel marqueur prédictif et mécanisme de résistance à l'immunothérapie

La concentration de Kyn dans les tissus tumoraux et dans le plasma des patients atteints de cancer est également associée à des phénotypes immunosuppresseurs. Chez les patients atteints d'un cancer du sein ou du côlon, l'expression du checkpoint immunitaire PD-1 sur les cellules T CD8 a montré une corrélation positive importante avec les concentrations de Kyn dans le sang et le tissu tumoral (118). Ensemble, ces études fournissent des preuves du rôle du catabolisme du Trp dans la promotion d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur, confirmant ainsi l'importance de l'IDO1 comme cible thérapeutique.

PARTIE 2 – ARTICLE ORIGINAL

Avant-propos

L'immunothérapie a pris une place majeure désormais dans la prise en charge des patients atteints de cancer. Les anticorps monoclonaux ciblant des protéines jouant un rôle majeur dans la régulation de l'activité des cellules immunitaires tels que PD-1 (Programmed cell Death protein 1), PD-L1 (Programmed cell Death-ligand 1) ou CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Associated protein 4) ont ainsi obtenu leur autorisation de mise sur le marché dans de nombreuses indications tumorales. Cependant, une proportion importante de patients traités avec ce type de molécules n'en tire aucun bénéfice, suggérant l'existence d'autres voies immunorégulatrices impliquées dans la résistance au traitement. L'une d'elles est la voie catabolique du Tryptophane (Trp). Elle est impliquée en effet dans la progression tumorale en agissant comme un facteur microenvironnemental majeur capable de limiter l'immunité anti-tumorale dans le cancer.

L'objectif de notre étude est d'identifier le rôle des métabolites circulants de la voie du Tryptophane sur la réponse à l'immunothérapie par ICI chez les patients atteints de tumeurs solides.

Mots clés

Kynurénine, tryptophane, IDO1, immunothérapie, facteur prédictif, mécanisme de résistance.

Circulating Tryptophan Predicts Survival and Response to Immune Checkpoint Inhibitors in Patients with Advanced Solid Tumors

Florent Peyraud^{1,7}, Jean-Philippe Guegan², Dominique Bodet², Sophie Cousin¹, Benjamin Besse⁴, Fabrice André⁴, Aurélien Marabelle⁵, Nathalie Chaput⁶, Alban Bessede², Antoine Italiano^{1,3,5,7}

1. Department of Medical Oncology, Institut Bergonié, 33000 Bordeaux, France.
2. Explicyte Immuno-Oncology, 33000 Bordeaux, France.
3. Early Phase Trials and Sarcoma Unit, Institut Bergonié, 33000 Bordeaux, France.
4. Department of Medical Oncology, Gustave Roussy Cancer Campus, 94800 Villejuif, France.
5. Drug Development Department (DITEP), Gustave Roussy Cancer Campus, 94800 Villejuif, France.
6. Laboratory of Immunomonitoring in Oncology (LIO), Gustave Roussy Cancer Campus, 94800 Villejuif, France.
7. University of Bordeaux, 33076 Bordeaux, France.

Keywords: indoleamine-2,3-dioxygenase, tryptophan metabolism, kynurenine, immunotherapy, immune checkpoint inhibitors, predictive value, mechanism of resistance.

Florent Peyraud : f.peyraud@bordeaux.unicancer.fr

Jean-Philippe Guégan : jp.guegan@explicyte.com

Dominique Bodet : dbodet@immusmol.com

Sophie Cousin : s.cousin@bordeaux.unicancer.fr

Benjamin Besse : benjamin.besse@gustaveroussy.fr

Fabrice André : fabrice.andre@gustaveroussy.fr

Aurélien Marabelle : aurelien.marabelle@gustaveroussy.fr

Nathalie Chaput : nathalie.chaput@gustaveroussy.fr

Alban Bessede : abessede@immusmol.com

Antoine Italiano : a.italiano@bordeaux.unicancer.fr

Abstract

Introduction: Despite remarkable success of immune checkpoint inhibitors (ICIs) targeting anti-programmed cell death protein 1 (anti-PD-1) or its ligand (PD-L1), only a minority of cancer patients derive long-term clinical benefit from these agents. Therefore, there is a crucial need to identify novel and reliable biomarkers of response or resistance to such treatments in order to select patients who are more likely to benefit. Given the known role of the indoleamine-2,3 dioxygenase (IDO1) in modulating antitumor immunity, we aimed to evaluate the circulating IDO1-associated metabolites, namely the kynurenine (Kyn) and tryptophan (Trp), as a possible biomarker of response to ICIs in patients with solid tumors.

Methods: We analyzed the levels of circulating Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio of plasma samples, collected before onset and on-therapy and measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), from two independent prospective cohorts of cancer patients treated with ICI (Discovery cohort, n=100; Validation cohort, n=292). We then investigated the correlation between these metabolites (Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio), clinical benefit rate (durable clinical benefit versus non-durable benefit), progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) by Cox proportional hazards models.

Results: In both Discovery and Validation cohorts, we found that elevated baseline level of Trp is associated with durable clinical benefit and better clinical outcome in cancer patients treated with ICI. We observed that circulating level of Trp inversely correlates with PD-L1 tumor expression. By subgroup analysis, we also showed that high circulating level is associated with prolonged survival in both PD-L1 negative and low CD8 T-cell density within tumors. In the Validation cohort, we also demonstrated that decrease of Trp level among patients receiving ICI correlates with worse clinical outcome and shorter survival, suggesting a possible mechanism of primary resistance.

Conclusion: These novel clinical findings bring strong evidence for the role of circulating Trp as a potential biomarker of response to ICI and suggest that targeting Trp catabolic pathway, such as IDO1, may represent a promising approach to improve efficacy of cancer immunotherapy in combination with ICI.

I. Introduction

Over the last decade, tumor immune escape has been considered as a new paradigm that promotes tumor growth and evasion, thus appearing as an attractive therapeutic strategy. Due to their ability to block immunosuppressive pathways and reinvigorate antitumor immune responses, the use of checkpoint inhibitor-based immunotherapies that target programmed cell death protein 1 (PD-1) or its ligand, PD-1-ligand 1 (PD-L1) and cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA-4), have achieved remarkable clinical efficacy and have transformed the treatment of multiple cancer types (1). For example, antibodies targeting the PD-1/PD-L1 or CTLA-4 axis have been approved for an ever-growing list of malignancies, including melanoma, lung cancers, renal cell cancer (RCC), bladder cancer and head and neck squamous cell cancer (HNSCC) (2,3). However, despite this major shift in clinical care, a significant proportion of patients receiving immune checkpoint inhibitors (ICIs) do not derive benefit, suggesting the existence of additional immunoregulatory pathways and underlining the need to develop predictive companion biomarkers to select patients who will likely to respond. While PD-L1 expression on either tumor cells or immune cells is considered as a marker of treatment benefit in non-small cell lung carcinoma (NSCLC) or breast cancer, no association is found in most of tumor type where ICIs are efficient (4,5). These discrepancies suggest caution in considering PD-L1 as a reliable biomarker for the selection of eligible patients for ICIs (6). Although additional biomarkers of response to immunotherapy have been suggested, such as the presence of tumor infiltrating T cells (TILs) or mature tertiary lymphoid structures (TLS), mismatch DNA repair deficiency (microsatellite instability or MSI) or a high tumor mutational burden (TMB), clinically relevant and robust predictive biomarkers are still lacking (7–10). Furthermore, since failure of initial response to ICIs or the emergence of late relapses usually develop, the mechanisms underlying innate (primary) and acquired (secondary) resistance have to be better understood to enable an adaptive strategy and a precision medicine approach (11–13). Therefore, the development of predictive biomarkers of response or resistance to ICIs are urgently needed.

Besides the prototypical PD-1/PD-L1 and CTLA-4 axis, which hijacked by tumors to suppress immune control, numerous other mechanisms have been identified as important actors in immune editing process, such as metabolites immune modulation (14). In addition to its key roles in diverse physiological processes, several lines of evidence indicate that the essential amino acid tryptophan (Trp) catabolism is involved in tumor progression by acting as a major microenvironmental factor able to restrain antitumor immunity in cancer (15). Indoleamine 2,3 dioxygenase 1 (IDO1) is the first rate-limiting enzyme of the Kynurenine Pathway (KP) expressed in tumor cells, antigen-presenting cells or stromal cells that catalyzes the reaction of the L-tryptophan conversion into its downstream immunosuppressive metabolites, collectively known as Kynurenines (Kyn) (16). As a consequence of IDO1 activity in the tumor tissue, Trp starvation induces signaling in T-cell, leading to anergy and apoptosis through the suppression of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) activity (17). This low Trp concentration in the extracellular space further contributes to a tolerogenic milieu in the tumor microenvironment, preventing T cell proliferation and enhancing regulatory T cell (Treg) activity through the stress responsive kinase general control nonrepressible 2 (GCN2) (18–20).

Moreover, the accumulation of Trp catabolites, most notably Kyn, induce effector T cell apoptosis and act as an endogenous activator of the ligand-operated transcription factor aryl hydrocarbon receptor (AhR) on tumor cells, thus promoting Treg generation and expansion (21,22). The pathologic tumoral activation of the KP is responsible of the impairment of antitumour immunity and promotes tumor growth. Considering the major role of IDO1 activity in the suppression of antitumour immune response, this enzyme could be involved in the primary or secondary resistance to ICIs and could be potentially utilized as potential relevant predictive biomarker of response to ICI.

Increased expression or activity of IDO1 is frequently observed in a variety of cancers and often correlated with advanced stage at diagnosis, poor prognosis and worse response to chemotherapy (23–25). As a surrogate marker of IDO activity in tumor, IDO activity in the blood has usually been measured indirectly by an increased ratio of Kyn/Trp, reflecting the degradation of Trp by enzymatically active IDO. Circulating plasmacytoid dendritic cells (pDCs) and monocytic myeloid-derived suppressor cells (mMDSCs) are the predominant cells expressing IDO in blood. These cells correlated with either increased Kyn/Trp and PD-L1 expressing cytotoxic T cells and CTLA-4 expressing Treg, suggesting that these immune regulatory molecules are closely intertwined (26,27). Moreover, MDSC favors the conversion of effector T cells in Treg, contributing to Treg expansion through an IDO-mediated mechanism that dampen antitumour immune response (28,29). Recent preclinical data have evidenced that IDO-deficient mice with melanoma model were more sensitive to immune checkpoint inhibitors, including anti-CTLA-4, anti-PD1 and anti-PD-L1, thus highlighting the crucial role of IDO in resistance to those treatments (30). In addition, evidence has documented that ICIs anti-CTLA-4 and anti-PD-L1 combined with IDO inhibitors enhanced proliferation and infiltration of cytotoxic T lymphocytes and interleukin-2 (IL-2) production in preclinical models (31). However, besides a strong preclinical rationale, the potentially relevant combinatorial approach of IDO inhibitors with other immune-modulatory drugs such as ICIs failed to demonstrate clinical efficacy to date (32). Therefore, by contributing to the immune-suppressive phenotype in tumors, IDO1 activity via KP could be an important mechanism of the resistance to ICIs observed in patients with solid tumors, and could serve as biomarker of resistance. Moreover, assessing serum Kyn/Trp ratio could identify the correct group of patients for immunotherapy benefit.

Based on two independent cohorts, the objective of this study was to investigate the association between circulating Trp, Kyn and Kyn/Trp ratio and response to ICIs in patients with advanced solid tumors.

II. Methods

Study design and patient cohort

This study was based on the ancillary analysis of two prospective cohorts of advanced or metastatic cancer patients treated between December 2015 and November 2020 at two comprehensive cancer centers: Institut Bergonié, Bordeaux, France (data analysis) and Gustave Roussy, Villejuif, France (Discovery cohort from MATCH-R (33), NCT02517892; Validation cohort from PREMIS, NCT03984318), respectively. The inclusion criteria were age \geq 18 years, histologically proven malignant tumor, unresectable and/or metastatic disease; for patients treated with immunotherapy, at least one tumor evaluation by imaging after immunotherapy onset, and availability of plasma samples before immunotherapy onset. Institutional ethics review board approval and patient informed consent were obtained for this study.

Treatment and evaluation

Patients were treated at the discretion of their physician. All patients from Discovery cohort and Validation cohort received an anti-PD-1 or anti-PD-L1 in the metastatic setting. The best response to treatment was evaluated according to immune Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (iRECIST) after central review (34). Routine follow-up was similar across the three cohorts treated with ICI. Response rate (RR) were analyzed using either the clinical response [no response (NR) = progression disease (PD) + stable disease (SD) versus objective response (OR) = partial response (PR) + complete response (CR)]. Durable clinical benefit (DCB) was defined as the proportion of patients achieving OR or SD lasting \geq 12 months; otherwise, response was classified as non-durable benefit (NDB). Progression-free survival (PFS) was defined as the time from the start of treatment until disease progression, death, or last patient contact. Overall survival (OS) was defined as the time from the start of treatment until death or last patient contact.

Clinical data collection

Data about gender, cancer type, age at initiation of ICI therapy, Performans Status Eastern Cooperative Oncology Group (PS ECOG), previous lines of treatment, liver metastasis, type and class of ICI-based regimen and follow-up were collected for all cohorts.

Serum sample collection and processing

Serum samples were collected at the specified time-point of each cohort (baseline and on-treatment at week 6) by centrifugation and stored at or below -20°C for up to 2 months followed by storage at -80°C until analysis. The circulating plasma levels of kynurenine (Kyn) and tryptophan (Trp) were centrally assessed using mean of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, ImmSmol, France) at Institut Bergonié, Bordeaux, France.

Kynurenine quantitative determination of serum samples

For Kyn quantification, 10 μ L of serum samples was mixed with 250 μ L of the acylation buffer and 25 μ L of the acylation reagent into wells covered with adhesive foil and incubated 90 minutes at 37°C. Twenty microliters of the latter prepared samples was injected into the appropriate well of the kynurenine microtiter strips, shortly mixed with 50 μ L of the kynurenine antiserum, covered with adhesive foil and incubated 15-20 hours at 2-8°C. The content of the well was discarded and the plate was washed 4 times by adding 300 μ L of wash buffer and blotting dry each time. Hundred microliters of the enzyme conjugate was added into all wells and incubated for 30min at 20-25°C on a shaker at 600rpm. The content of the well was discarded and the plate was washed 4 times by adding 300 μ L of wash buffer and blotting dry each time. Hundred microliters of the substrate was added into all wells and incubated in the dark for 20-30min at 20-25°C on a shaker at 600rpm. Hundred microliters of the stop solution was mixed into each well and the absorbance of the solution was read within 10 minutes using a microplate reader set to 450nm (a reference wavelength between 620nm and 650nm is recommended). The concentrations of the samples and controls were read directly from the standard curve (in nanograms per milliliter). Protocols and probe references are available on request.

Tryptophan quantitative determination of serum samples

For Trp quantification, 10 μ L of serum samples was mixed thoroughly with 200 μ L of phosphate-buffered saline (PBS) and 25 μ L of precipitating reagent. The precipitated samples were centrifuged 15min at 9000g at 20-25°C. Twenty-five microliters of the clear supernatant was injected into the appropriate well of the reaction plate for derivatization, mixed with 50 μ L of the equalizing reagent and 10 μ L of the D-reagent, covered with adhesive foil and incubated 2h at 20-25°C on a shaker at 600rpm. Hundred microliters of the Q-buffer was added into all wells and incubated for 10min at 20-25°C on a shaker at 600rpm. Twenty-five microliters of the latter prepared samples was injected into the appropriate wells of the tryptophan microtiter strips, shortly mixed with 50 μ L of the tryptophan antiserum, covered with adhesive foil and incubated 15-20 hours at 2-8°C. The content of the well was discarded and the plate was washed 3 times by adding 300 μ L of wash buffer and blotting dry each time. Hundred microliters of the enzyme conjugate was added into all wells and incubated for 30min at 20-25°C on a shaker at 600rpm. The content of the well was discarded and the plate was washed 3 times by adding 300 μ L of wash buffer and blotting dry each time. Hundred microliters of the substrate was added into all wells and incubated in the dark for 20-30min at 20-25°C on a shaker at 600rpm. Hundred microliters of the stop solution was mixed into each well and the absorbance of the solution was read within 10 minutes using a microplate reader set to 450nm (a reference wavelength between 620nm and 650nm is recommended). The concentrations of the samples and controls were read directly from the standard curve (in micrograms per milliliter). Protocols and probe references are available on request.

Kynurenine, tryptophan and kynurenine to tryptophan ratio quantification

Kynurenine to tryptophan ratio (Kyn/Trp ratio) has been calculated and serves as a reliable biomarker for the Trp-degrading enzyme IDO1 activity. Because no conventional cutoff has yet been established, all patients were classified as “Kynurenine High” or “Kynurenine Low”, “Tryptophan High”

or “Tryptophan Low”, and “Kynurenine/Tryptophan High” or “Kynurenine/Tryptophan Low” according to the optimal cutpoint that was independently calculated from the MATCH-R Discovery cohort using the *survminer* R package (0.4.9). In the PREMIS Validation cohort, patients were classified as “Increase” if they showed a 25% increase in kynurenine level or Kyn/Trp ratio, or as “Decrease” if they showed a 25% decrease in tryptophan level, respectively; otherwise, patients were classified as “Others”.

Immunohistochemistry stainings, semi-automated and quantitative analysis of CD8+ T cell infiltrate

For all patients with available formalin-foxed paraffin-embedded (FFPE) tumor samples from MATCH-R cohort, immunohistochemistry stainings were carried out on 3.5 micrometers tumor tissue sections using CD8 antibody (C8/144B, Dako) with the Ventana Discovery Ultra platform (Ventana, Roche Diagnostics). Stained slides were digitized with a multispectral slide-imaging platform (Vectra Polaris, Akoya Bioscience). Tumor surfaces were assessed with Inform (Akoya Bioscience, version 2.4.1) software after manual annotation of the scanned slide by a pathologist and served to calculate the density of CD8+ T cells per sample after digital tissue segmentation and cell phenotyping (Akoya Bioscience, version 2.4.1). Median CD8+ T cells was used to classify patients with “High” versus “Low” CD8+ T cell density.

PD-L1 scoring

For all patients with available formalin-foxed paraffin-embedded (FFPE) tumor samples from MATCH-R cohort, the PD-L1 status was determined with tumor proportion score (TPS) following the guidelines (35,36). Only viable tumor cells displaying partial or complete staining for PD-L1 membrane expression were considered relative to the total number of tumor cells. Positive immune cells and neoplastic cells showing only cytoplasmic staining were excluded. $TPS \geq 1$ was considered to classify high PD-L1 expression.

Statistical analysis

The cutoff date for statistical analysis of baseline demographic data and clinical outcome was 11/30/2020. All statistical analyses were done in RStudio Version 1.2.5019 (downloaded from <https://www.r-project.org/>). In the descriptive analysis, quantitative variables were described as mean and range, whereas qualitative variables as number and percentage. In the statistical analysis, the χ^2 -test and t-test for unpaired data were applied to compare frequencies and means of categorical variables, respectively. PFS and OS were estimated using Kaplan-Meier method, comparisons between groups were made using log-rank test, and the Cox method was used to generate hazard ratios (HRs) and 95% confidence interval (CIs). Comparison of continuous variables was evaluated using the non-parametric Mann-Whitney U test. All statistical tests were two-sided, and $p < 0.05$ indicated statistical significance. For Pearson correlations, we used the *cor.test* function in RStudio to conduct significance tests and obtain the *p*-values (two-sided). For survival analysis, we used the *survival* package in RStudio. Multiple comparison adjustment was not performed as these studies were exploratory in nature.

III. Results

Clinical cohorts and patient characteristics treated with ICI therapy

Our study consisted of ancillary analysis two independent prospective trials (MATCH-R, NCT02517892; PREMIS, NCT03984318), which included adult patients treated with immune checkpoint targeted monoclonal antibody immunotherapy. Kyn and Trp profiling of serum samples was performed using mean of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The workflow of our study is summarized in **Supplementary Fig. S1**.

The MATCH-R trial (NCT02517892) is an ongoing prospective study that aims to characterize molecular mechanisms of acquired resistance to immunotherapy as well as targeted therapies in patients with advanced cancer. Among the 100 patients included in this discovery cohort, the median age was 63.0 years (range: 34-92), and NSCLC and urothelial cancers were the most common histological subtypes (77/100, 77.0% and 13/100, 13.0%, respectively). The basic clinicopathological characteristics of the MATCH-R Discovery cohort are described in **Table 1**. All patients were assessed at baseline for plasma Kyn and Trp levels. The median value of Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio were 2253.50 μ M (range: 739.8-8245.2), 51.96nM (range: 16.90-95.03) and 37.02 (range: 14.31-441.83), respectively. Association between baseline clinicopathological characteristics and baseline Kyn level, Trp level and Kyn/Trp ratio are detailed in **Supplementary Table S1**.

To investigate the generalizability of our results, we also analyzed circulating Kyn and Trp levels in a larger prospective trial. The PREMIS trial (NCT03984318) aims to define the immune status of patients prior an immunotherapy and who are subsequently developing immune-related adverse event (irAE) in order to identify non-invasive predictive biomarkers of immune toxicity. Among the 292 patients included in this validation cohort, the median age was 62.0 years (range: 25-99), and NSCLC, melanoma and sarcoma were the most common histological subtypes (110/292, 37.7%; 24/292, 8.2%; and 21/292, 7.2%, respectively). Both pre-treatment (baseline) and on-treatment (week 6) profiled samples were available in 165/292 patients (56.5%). The basic clinicopathological characteristics of the PREMIS Validation cohort are listed in **Table 2**. The median value of baseline Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio were 2305.32 μ M (range: 577.2-6822.5), 49.09nM (range: 15.44-112.06) and 46.64 (range: 10.51-220.09), respectively. Association between baseline clinicopathological characteristics and baseline Kyn level, Trp level and Kyn/Trp ratio in PREMIS Validation cohort are detailed in **Supplementary Table S2**.

Elevated plasmatic tryptophan level is associated with durable clinical benefit and better clinical outcome to ICI treatment in a discovery cohort

In order to evaluate the predictive value of circulating level of Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio, we quantified these amino acid – using a validated immunoassay – in plasma collected prior ICI-based treatment (baseline) of 100 patients enrolled in the MATCH-R study (Discovery cohort from MATCH-R, NCT02517892; baseline clinicopathological characteristics described in **Table 1**). We then analyzed clinical benefit (DCB vs. NDB), PFS and OS using maximally selected rank statistics in order to derive a calculated cutpoint value of Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio as the most clinically relevant cut-off value (**Supplementary Fig. S2**). These values were then used to stratify patients as Kyn^{High} (33/100, 33.0%) or Kyn^{Low} (67/100, 67.0%), Trp^{High} (80/100, 80.0%) or Trp^{Low} (20/100, 20.0%), and Kyn/Trp ratio^{High} (34/100, 34.0%) or Kyn/Trp ratio^{Low} (66/100, 66.0%), respectively.

Baseline Trp level was found significantly higher in patients deriving a DCB (24/100, 24.0%) compared to those with a NDB (76/100, 76.0%) from ICI therapy (median Trp level = 51.02 μ M in NDB vs. 59.41 μ M in DCB, respectively; $p = 0.035$; **Fig. 1A**). No association was observed between baseline Kyn level or Trp/Kyn ratio and clinical benefit, respectively (for median Kyn level = 2187.20nM in NDB vs. 2606.32nM in DCB, respectively; $p = 0.12$; for median Kyn/Trp ratio = 36.82 in NDB vs. 48.95 in DCB; $p = 0.66$, respectively; **Fig. 1B-C**). In comparison to Trp^{Low} patients, a higher proportion of Trp^{High} patients had clinical benefit from ICI (for DCB: 1/20, 5.0% vs. 23/80, 28.8%, respectively; for NDB: 19/20, 95.0% vs. 57/80, 71.3%, respectively; $p = 0.010$; **Fig. 1D**). Moreover, baseline Trp^{Low} patients had significantly worse clinical outcome compared to Trp^{High} patients, with shorter PFS (median PFS: 1.28 months vs. 3.74 months, respectively; HR, 3.09; 95% CI, 1.82-5.23; $p < 0.001$; **Fig. 1E**). Concordantly, patients with Trp^{Low} level had poorer OS compared with those with Trp^{High} level (median OS: 3.85 months vs. 12.23 months, respectively; HR, 3.11; 95% CI, 1.77-5.48; $p < 0.001$; **Fig. 1F**).

We also examined the possibility that baseline Trp level might be associated with other biomarkers of response to ICI, including PD-L1 tumor expression and CD8 T-cell density (**Fig. 2A**). Among patients with evaluable PD-L1 status and CD8 density in the MATCH-R Discovery cohort ($n = 63/100$, 63.0%), there were a higher proportion of PD-L1 positive tumors in Trp^{Low} patients compared to those with Trp^{High} (9/14, 64.3% vs. 13/49, 26.5%, respectively; $p = 0.009$; **Fig. 2B**). No association was observed between baseline Trp level and CD8 T cell density within tumors ($p = 0.252$; **Fig. 2C**). In patients with negative PD-L1 tumor expression (TPS < 1; 41/63, 65.1%), baseline Trp^{High} level was significantly associated with longer PFS (median PFS: 1.21 months vs. 2.83 months, respectively; HR, 6.06; 95% CI, 1.99-18.47; $p < 0.001$; **Fig. 2D**) compared to those with Trp^{Low} level. A non-significant trend was observed between Trp level and PFS in patients with positive PD-L1 tumor expression (TPS ≥ 1 ; 22/63, 34.9%; **Fig. 2E**). Similarly, we also noted a significant association between baseline Trp^{High} level and prolonged PFS (median PFS: 1.28 months vs. 3.91 months, respectively; HR, 8.05; 95% CI, 2.72-23.86; $p < 0.001$; **Fig. 2F**) in patients with low CD8 T-cell density within tumors (32/63, 50.8%). However, there was no association between Trp level and PFS in patients with high CD8 T-cell density within tumors (31/63, 49.2%; **Fig. 2G**).

Baseline tryptophan level predicts clinical outcome to ICI in an independent validation cohort

We then analyzed the correlation between circulating Trp level and response to ICI in an independent validation cohort from PREMIS study (Validation cohort from PREMIS, NCT03984318; baseline clinicopathological characteristics described in **Table 2**). Using optimal cutpoint values that were determined in MATCH-R Discovery cohort (**Supplementary Fig. S2**), patients from the PREMIS Validation cohort (n = 292) were classified as Kyn^{High} (104/292, 37.0%) or Kyn^{Low} (175/292, 63.0%), Trp^{High} (204/292, 73.6%) or Trp^{Low} (75/292, 26.4%), and Kyn/Trp ratio^{High} (114/292, 40.4%) or Kyn/Trp ratio^{Low} (165/292, 59.6%), respectively.

Concordantly with previous results, there was a significantly higher baseline Trp level among patients deriving a DCB (77/292, 26.4%) compared to those with a NDB (202/292, 69.2%) from ICI therapy (median Trp level = 49.89 μ M vs. 49.04 μ M, respectively; $p = 0.026$; **Fig. 3A**). We also noted a significant association between baseline Trp^{High} and better clinical benefit of ICI, with higher proportion of patients showing DCB compared to those with Trp^{Low} level (for DCB: 73/215, 33.9% vs. 13/77, 16.9%, respectively; for NDB: 142/215, 66.1% vs. 64/77, 83.1%, respectively; $p = 0.013$; **Fig. 3B**). In addition, Trp^{High} patients had significantly improved clinical outcome with prolonged PFS (median PFS: 3.53 months vs. 2.13 months, respectively; HR, 1.65; 95% CI, 1.21-2.25; $p = 0.001$; **Fig. 3C**) and OS (median OS: 14.63 months vs. 6.12 months, respectively; HR, 2.39; 95% CI, 1.62-3.52; $p < 0.001$; **Fig. 3D**) in comparison with Trp^{Low} patients.

Besides baseline Trp level, we also investigated the impact of baseline Kyn level in patients treated with ICI. No association was found between baseline Kyn level and clinical benefit (**Supplementary Fig. S3A**). Conversely, no difference was observed between Kyn^{Low} or Kyn^{High} patients and clinical benefit, PFS or OS (**Supplementary Fig. S3B-D**). By using Kyn/Trp ratio as a metric indicating Trp to Kyn conversion, we could not detect any association between baseline Kyn/Trp ratio and clinical benefit (**Supplementary Fig. S3E**) as well as between Kyn/Trp^{Low} or Kyn/Trp^{High} patients and clinical benefit (**Supplementary Fig. S3F**). However, Kyn/Trp^{Low} patients demonstrated a slightly significant longer PFS (median PFS: 3.50 months vs. 2.77 months, respectively; HR, 0.75; 95% CI, 0.57-0.99; $p = 0.045$; **Supplementary Fig. S3G**) and OS (median OS: 13.57 months vs. 9.76 months, respectively; HR, 0.61; 95% CI, 0.42-0.87; $p = 0.006$; **Supplementary Fig. S3H**) in comparison with Kyn/Trp^{High} patients, suggesting that the predictive value of the Kyn/Trp ratio is mainly driven by baseline Trp level. Altogether, these results confirms that baseline Trp level predicts clinical outcome to ICI treatment.

Decrease of tryptophan level upon ICI treatment is associated with poor clinical outcome

We then sought to determine the impact of ICI on circulating Kyn and Trp metabolites during treatment compared to the baseline. Among patients from the PREMIS Validation cohort, Kyn and Trp levels were dosed prior to treatment (baseline) and 6-week after ICI initiation ($n = 165$), allowing dynamic analysis of circulating metabolites.

On average, we observed a significant Trp decreases between baseline and week 6 in patients with a NDB ($p < 0.0001$), whereas no change was observed in patients with DCB ($p = 0.12$; **Fig. 4A**). Concordantly, patients without Trp decreases were more likely to benefit from ICI, with higher proportion of patients showing DCB compared to those with Trp fall ($p = 0.029$; **Fig. 4B**). In addition, patients showing Trp decreases had significantly shorter PFS (median PFS: 2.72 months vs. 5.82 months, respectively; HR, 0.54; 95% CI, 0.38-0.78; $p = 0.001$; **Fig. 4C**) and OS (median OS: 10.09 months vs. NR, respectively; HR, 0.45; 95% CI, 0.28-0.74; $p = 0.001$; **Fig. 4D**) in comparison with Trp^{Others} patients.

We also investigated the changes of Kyn and Kyn/Trp ratio during ICI treatment. There was no significant association between Kyn changes and clinical benefit outcomes (**Supplementary Fig. S4A-B**). In addition, no association was observed between Kyn^{Increase} and survival, nor in term of PFS neither OS (**Supplementary Fig. S4C-D**). Despite patients with a NDB had a significant Kyn/Trp ratio fall during ICI treatment ($p = 0.007$), no significant association was found between Kyn/Trp ratio changes and clinical benefit outcomes (**Supplementary Fig. S4E-F**). Similarly, Kyn/Trp ratio changes did not correlate with PFS or OS (**Supplementary Fig. S4G-H**). Altogether, these results confirmed Trp as a top down-regulated metabolite following ICI treatment.

IV. Discussion

In summary, we showed that baseline level of circulating Trp predicts response to ICI in a subset of patients with advanced solid tumors, confirming its role as a possible predictive biomarker. In particular, elevated baseline Trp level was associated with durable clinical benefit and prolonged survival in two independent cohorts of patients treated with ICI. Moreover, we showed that Trp temporal alterations robustly correlated with survival of patients receiving ICIs, highlighting a possible mechanism of primary resistance to immunotherapy.

The sources that contributed to these Trp changes in plasma remain unclear. The Trp catabolism is physiologically regulated by IDO1, TDO and other enzymes that catalyze the conversion of Trp to Kyn, and plays a pivotal role in tumor progression and regulation of antitumor immune responses (23,37). Indeed, as a part of concerted mechanisms that occur in the tumor microenvironment, a multitude of cancer cells constitutively express or upregulate IDO1, TDO, or both, and coerce stromal and tumor-infiltrating immune cells, such as DCs and MDSCs, to express IDO1, supporting evasion of immunosurveillance (38,39). To corroborate these findings, the metabolomic profile of hundred cancer cell lines found marked outlier production of Kyn and that secreted Kyn can be attributed to *IDO1* expression (40). To note, changes in intracellular Trp level was not reported in the latter study. Altogether, these data suggest that tumor cells can probably use IDO1 overexpression to convert Trp into the immunosuppressive Kyn metabolite, thus leading to Trp depletion in plasma of cancer patients and impairing antitumor immunity. Therefore, circulating Trp levels may be used as a surrogate parameter of IDO1 activity in tumors. However, besides tumor, other sources of host-derived Trp to Kyn conversion cannot be ruled out, including immune cells or microbiota (41–45).

Early studies demonstrated that increased IDO1-mediated Trp to Kyn conversion exert immunosuppressive effects through AhR activation, leading to suppressed effector T cell proliferation and enhanced regulatory T cell generation that dampen antitumor immune responses (20,41,42,46–48). More interestingly, preclinical evidence suggest that upregulated IDO1 activity can be involved in primary resistance to ICI (30,49). By suppressing this pathway, circulating Trp level could be further increased, tumor immune resistance could be reversed and checkpoint inhibition efficacy could be enhanced (23,47,30). Indeed, antibodies targeting PD-1/PD-L1 demonstrated a strong antitumor effect and increased survival in *IDO1* knockout B16 melanoma mice models and combination of ICIs with IDO1 inhibitors synergized to mediate tumor rejection in a T cell-dependent manner (30). Similarly, PD-1 inhibition had limited activity in selected sarcoma that may be explained by an immunosuppressive tumor microenvironment resulting from IDO1 pathway activation (50). Notably, IDO1 tumor expression has been associated with better response to anti-PD1 in patients with RCC (51). In our study, we found that ICIs seemed to be more effective when Trp level is elevated, thus possibly reflecting a naturally low IDO1 activity in tumor and thus a poor Kyn production. One might surmise that patients with high IDO1 activity, which lead to a more tolerogenic state in the tumor microenvironment through upregulation of Tregs and downregulation of effector CD8 T cells, may derive benefit from IDO1-targeting agents to enhance antitumor immunity. Therefore, our data

illustrate that checkpoint blockade in combination with IDO1 inhibitors might only benefit a selected group of patients with Kyn pathway activation. Given the disappointing results of combined PD-1 and IDO1 inhibition among unselected patient population in randomized trials, our findings highlight the need and the feasibility of patient stratification by monitoring Trp alterations and more generally point the relevance of metabolic tumor state in cancer immunotherapy (52,53).

Mounting evidence illuminates IDO1 and the Kyn-Trp-AhR pathway as a pivotal player that bridges inflammation and immune escape, and drives the failure of ICI (54). Based on this hypothesis, we have speculated that plasma levels of Trp, reflecting IDO1 activity within tumor, may be associated with additional tumor microenvironment features, such as PD-L1 tumor expression status and CD8 T cell density. In our study, we observed an average increased PD-L1 tumor expression among Trp^{Low} patients, suggesting upregulation of immune resistance in the tumor microenvironment potentially driven by IDO1 activity within tumors. This hypothesis is supported by the association that exists between Kyn pathway and PD-1/L1 immune checkpoints. Indeed, across 30 human solid tumors from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, the gene expression of *IDO1*, was strongly correlated with the expression of PD-1 (55). Recently, it was observed that AhR induction and activation by Kyn upregulates PD-1 expression in both tumor-bearing mice and cancer patients that can potentially favor a tolerogenic milieu (56). Moreover, we found that Trp^{High} patients with PD-L1 negative tumors or with low tumor-infiltrating of CD8 T cells had prolonged response to ICI, suggesting a highly competent antitumor immunity in these patients. Therefore, therapeutic interventions aiming at modulate the Trp-Kyn-AhR axis and Trp catabolism may have the potential to turn immunologically unresponsive “cold” tumors “hot” and thus synergize with ICI to improve clinical outcome (13,57,58).

The development of cancer immunotherapy still lacking accurate markers able to predict ICI efficacy, paving the way of numerous studies focused on blood-derived predictive biomarkers (59–63). Prior concordant studies demonstrated a correlation between serum Kyn/Trp level and response to anti-PD-1/L1-based immunotherapy (64–67). More specifically, baseline serum Kyn/Trp ratio was significantly higher in early progressors in patients with NSCLC treated with nivolumab, and survival was longer in patients presenting lower values of Kyn/Trp ratio, suggesting its role as a possible predictive biomarker of primary resistance to ICI (67). Moreover, a comprehensive profiling of serum metabolites in advanced melanoma and RCC patients treated with anti-PD-1 identified serum Kyn/Trp ratio increases as an adaptive resistance mechanism associated with worse overall survival (66). Similar to our observations, the plasma metabolic profile of patients with NSCLC showed that baseline circulating Trp levels were significantly higher in patients with controlled disease upon ICI (68). Here, we observed similar effect among patients receiving ICI treatment, where a Trp fall was associated with poor clinical outcome. Indeed, the overall decrease in Trp levels observed might result in an adaptive immune suppressive microenvironment counterbalancing checkpoint blockade and contribute to immunotherapy resistance (69). However, the changes of Kyn level or Kyn/Trp ratio between week 6 and baseline were not associated with clinical outcomes, thus highlighting the major role of Trp on ICI-based antitumor immune response. This advocates for patient stratification and metabolic monitoring in immunotherapy clinical trials, including those combining PD-1/PD-L1 blockade and Kyn-Trp-AhR pathway-targeting agents.

Limitations of our study relies on the study design, in which ancillary analysis may have introduce diverse biases. In addition, considering the multiple studies that use serum Kyn and Trp levels as a metric indicating of IDO1 activity, it is yet unknown whether plasma level of Kyn and Trp do accurately and effectively predict the tumoral activity of IDO1. While IDO1 is expressed physiologically in multiple type tissues, it would be relevant to evaluate simultaneously the circulating level of Kyn and Trp as well as tumoral expression of IDO1, and further determine their prognostic value and predictive capacity of response to ICI. Considering circulating Trp level alone, it thus warrants further investigation whether this marker could serve as biomarker to select and stratify patients, especially in the context of immunotherapy and in particular for investigated Trp-Kyn-AhR pathway-targeting drugs. Recent evidence from studies in different types of cancer points to alternative enzymatic pathways of Trp catabolism involving TDO and to a lesser extent IDO2 (70,71). TDO, which is considered responsible for regulating systemic Trp levels by the liver, is constitutively expressed in some cancers and is equally capable of suppressing antitumour immune responses (72,73). This function may explain discrepancy between the predictive value of Trp versus Kyn or Kyn/Trp ratio observed in our study. Moreover, a recent study found that elevated Trp levels in TDO-knockout mice overturned tumoral immune suppression induced by IDO1, leading to efficacy of anti-PD-1 antibody alone in IDO1-proficient MC38 colon tumors (74). These biological concerns suggest an additional layer of complexity that deserves further investigations to deeper understand the interplay between local tumor microenvironment and peripheral immunity, particularly in the context of immunotherapy. Therefore, the role of plasma Trp should be evaluated and interpreted in the context of other circulating and tissue immunological parameters, such as T-cell subpopulations, MDSCs, cytokines and chemokines, immune checkpoints, and microbiota. Similarly, owing to the complexity of tumor-immune interactions, static biomarkers may not be sufficient to accurately predict response and, as such, combination of dynamic biomarkers may be required (75).

In conclusion, we found that baseline circulating Trp predicts survival and response to ICIs in patients with advanced solid tumors. Moreover, dynamic alteration of Trp in plasma is possibly associated with primary resistance to ICI, regardless of the primary tumor type, and thus may serve as a potential predictive biomarker of ICI efficacy. Taken together, our findings have implications for the design and interpretation of novel combination therapies involving checkpoint inhibition and Trp-Kyn-AhR pathway targeting in the era of immuno-oncology.

List of abbreviations

AhR: aryl hydrocarbon receptor	mTORC1: mammalian target of rapamycin complex 1
BIP: Bergonié Institute Profiling	NR: not reached
CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte antigen	NSCLC: non-small cell lung carcinoma
DNA: deoxyribonucleic acid	OS: overall survival
ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay	pDC: plasmacytoid dendritic cell
GCN2: general control nonderepressible 2	PD-1: programmed cell death protein 1
HNSCC: head and neck squamous cell carcinoma	PD-L1: programmed death-ligand 1
ICI: immune checkpoint inhibitor	PFS: progression-free survival
IL-2: interleukin-2	RCC: renal cell carcinoma
IDO1: indoleamine 2,3 dioxygenase 1	TIL: tumor-infiltrating lymphocyte
irAE: immune-related adverse event	TLS: tertiary lymphoid structure
KP: kynurenine pathway	TMB: tumor mutational burden
Kyn: kynurenine	Treg: regulatory T cell
mMDSC: monocytic myeloid-derived suppressor cells	Trp: tryptophan
MSI: microsatellite instability	

References

1. Robert C. A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Nat Commun*. 2020 Jul 30;11(1):3801.
2. Gong J, Chehrazi-Raffle A, Reddi S, Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *J Immunother Cancer*. 2018 23;6(1):8.
3. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. *Front Oncol* [Internet]. 2018 [cited 2020 Aug 25];8. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2018.00086/full>
4. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med*. 2012 Jun 28;366(26):2443–54.
5. Biello F, Pinato DJ, Borra G, Genestroni S, Siffredi G, Repetti I, et al. PD-L1 status and efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICIs) in advanced cancer patients: A pooled analysis of randomized trials. *J Clin Oncol*. 2020 May 20;38(15_suppl):e15263–e15263.
6. Vigliar E, Malapelle U, Iaccarino A, Acanfora G, Pisapia P, Clery E, et al. PD-L1 expression on routine samples of non-small cell lung cancer: results and critical issues from a 1-year experience of a centralised laboratory. *J Clin Pathol*. 2019 Jun 1;72(6):412–7.
7. Havel JJ, Chowell D, Chan TA. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019 Mar;19(3):133–50.
8. Sautès-Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, Fridman WH. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019 Jun;19(6):307–25.
9. Helmink BA, Reddy SM, Gao J, Zhang S, Basar R, Thakur R, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response. *Nature*. 2020 Jan;577(7791):549–55.
10. Vanhersecke L, Brunet M, Guégan J-P, Rey C, Bougouin A, Cousin S, et al. Mature tertiary lymphoid structures predict immune checkpoint inhibitor efficacy in solid tumors independently of PD-L1 expression. *Nat Cancer*. 2021 Aug;2(8):794–802.
11. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell*. 2017 Feb;168(4):707–23.
12. Jenkins RW, Barbie DA, Flaherty KT. Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. *Br J Cancer*. 2018 Jan;118(1):9–16.
13. Schoenfeld AJ, Hellmann MD. Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Cell*. 2020 Apr 13;37(4):443–55.
14. Chang C-H, Pearce EL. Emerging concepts of T cell metabolism as a target of immunotherapy. *Nat Immunol*. 2016 Apr;17(4):364–8.
15. Prendergast GC, Smith C, Thomas S, Mandik-Nayak L, Laury-Kleintop L, Metz R, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase pathways of pathogenic inflammation and immune escape in cancer. *Cancer Immunol Immunother Cll*. 2014 Jul;63(7):721–35.
16. Baren N van, Eynde BJV den. Tumoral Immune Resistance Mediated by Enzymes That Degrade Tryptophan. *Cancer Immunol Res*. 2015 Sep 1;3(9):978–85.
17. Metz R, Rust S, DuHadaway JB, Mautino MR, Munn DH, Vahanian NN, et al. IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR: A novel IDO effector pathway targeted by D-1-methyl-tryptophan. *Oncol Immunology*. 2012 Dec 1;1(9):1460–8.
18. Mellor AL, Munn DH. Tryptophan catabolism and T-cell tolerance: immunosuppression by starvation? *Immunol Today*. 1999 Oct 1;20(10):469–73.
19. Munn DH, Sharma MD, Baban B, Harding HP, Zhang Y, Ron D, et al. GCN2 Kinase in T Cells Mediates Proliferative Arrest and Anergy Induction in Response to Indoleamine 2,3-Dioxygenase. *Immunity*. 2005 May 1;22(5):633–42.
20. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. *J Clin Invest*. 2007 May 1;117(5):1147–54.
21. Prendergast GC. Immune escape as a fundamental trait of cancer: focus on IDO. *Oncogene*. 2008 Jun;27(28):3889–900.
22. Opitz CA, Litzemberger UM, Sahn F, Ott M, Tritschler I, Trump S, et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature*. 2011 Oct 5;478(7368):197–203.
23. Uyttenhove C, Pilotte L, Théate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med*. 2003 Oct;9(10):1269–74.
24. Wang Y, Hu G, Wang Z. The status of immunosuppression in patients with stage IIIB or IV non-small-cell lung cancer correlates with the clinical characteristics and response to chemotherapy. *OncoTargets Ther*. 2017 Jul;Volume 10:3557–66.
25. Brochez L, Chevolet I, Kruse V. The rationale of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition for cancer therapy. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2017;76:167–82.

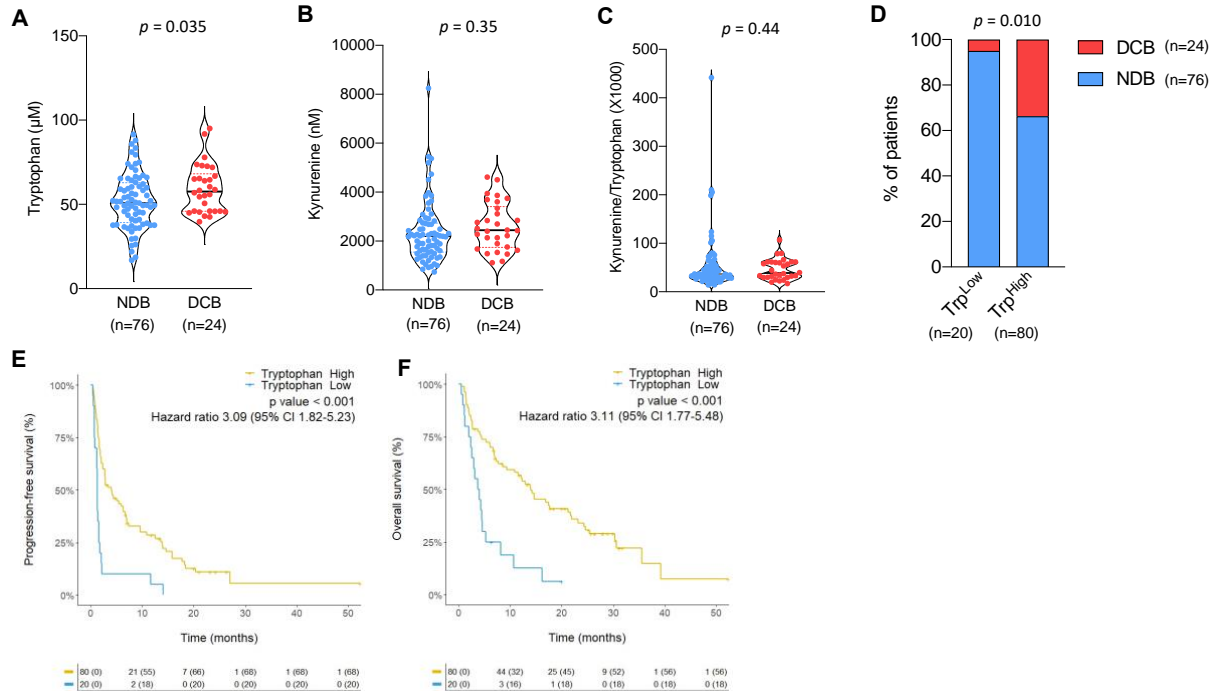
26. Chevolet I, Speeckaert R, Schreuer M, Neyns B, Krysko O, Bachert C, et al. Characterization of the in vivo immune network of IDO, tryptophan metabolism, PD-L1, and CTLA-4 in circulating immune cells in melanoma. *Oncol Immunology*. 2015 Mar 4;4(3):e982382.
27. Chevolet I, Speeckaert R, Schreuer M, Neyns B, Krysko O, Bachert C, et al. Clinical significance of plasmacytoid dendritic cells and myeloid-derived suppressor cells in melanoma. *J Transl Med*. 2015 Jan 16;13(1):9.
28. Zoso A, Mazza EMC, Biciato S, Mandruzzato S, Bronte V, Serafini P, et al. Human fibrocytic myeloid-derived suppressor cells express IDO and promote tolerance via Treg-cell expansion: Immunomodulation. *Eur J Immunol*. 2014 Nov;44(11):3307–19.
29. Li F, Zhao Y, Wei L, Li S, Liu J. Tumor-infiltrating Treg, MDSC, and IDO expression associated with outcomes of neoadjuvant chemotherapy of breast cancer. *Cancer Biol Ther*. 2018 Aug 3;19(8):695–705.
30. Holmgaard RB, Zamarin D, Munn DH, Wolchok JD, Allison JP. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *J Exp Med*. 2013 Jul 1;210(7):1389–402.
31. Spranger S, Koblish HK, Horton B, Scherle PA, Newton R, Gajewski TF. Mechanism of tumor rejection with doublets of CTLA-4, PD-1/PD-L1, or IDO blockade involves restored IL-2 production and proliferation of CD8(+) T cells directly within the tumor microenvironment. *J Immunother Cancer*. 2014;2:3.
32. Günther J, Däbritz J, Wirthgen E. Limitations and Off-Target Effects of Tryptophan-Related IDO Inhibitors in Cancer Treatment. *Front Immunol*. 2019;10:1801.
33. Recondo G, Mahjoubi L, Maillard A, Loriot Y, Bigot L, Facchinetti F, et al. Feasibility and first reports of the MATCH-R repeated biopsy trial at Gustave Roussy. *Npj Precis Oncol*. 2020 Sep 8;4(1):1–8.
34. Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekar S, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol*. 2017 Mar;18(3):e143–52.
35. Roach C, Zhang N, Corigliano E, Jansson M, Toland G, Ponto G, et al. Development of a Companion Diagnostic PD-L1 Immunohistochemistry Assay for Pembrolizumab Therapy in Non-Small-cell Lung Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol AIMM*. 2016 Jul;24(6):392–7.
36. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score of 50% or Greater. *J Clin Oncol*. 2019 Mar 1;37(7):537–46.
37. Munn DH, Sharma MD, Hou D, Baban B, Lee JR, Antonia SJ, et al. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor-draining lymph nodes. *J Clin Invest*. 2004 Jul;114(2):280–90.
38. Théate I, van Baren N, Pilotte L, Moulin P, Larrieu P, Renaud J-C, et al. Extensive profiling of the expression of the indoleamine 2,3-dioxygenase 1 protein in normal and tumoral human tissues. *Cancer Immunol Res*. 2015 Feb;3(2):161–72.
39. Meireson A, Devos M, Brochez L. IDO Expression in Cancer: Different Compartment, Different Functionality? *Front Immunol*. 2020 Sep 24;11:531491.
40. Li H, Ning S, Ghandi M, Kryukov GV, Gopal S, Deik A, et al. The landscape of cancer cell line metabolism. *Nat Med*. 2019 May;25(5):850–60.
41. Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, Bondarev I, Pashine A, Mellor AL. Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *J Exp Med*. 1999 May 3;189(9):1363–72.
42. Hwu P, Du MX, Lapointe R, Do M, Taylor MW, Young HA. Indoleamine 2,3-dioxygenase production by human dendritic cells results in the inhibition of T cell proliferation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2000 Apr 1;164(7):3596–9.
43. Munn DH, Sharma MD, Lee JR, Jhaveri KG, Johnson TS, Keskin DB, et al. Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. *Science*. 2002 Sep 13;297(5588):1867–70.
44. Van der Leek AP, Yanishevsky Y, Kozyrskyj AL. The Kynurenine Pathway As a Novel Link between Allergy and the Gut Microbiome. *Front Immunol*. 2017;8:1374.
45. Laurans L, Venteclef N, Haddad Y, Chajadine M, Alzaid F, Metghalchi S, et al. Genetic deficiency of indoleamine 2,3-dioxygenase promotes gut microbiota-mediated metabolic health. *Nat Med*. 2018 Aug;24(8):1113–20.
46. Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Burlingham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2010 Sep 15;185(6):3190–8.
47. Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, Colau D, Dolušić E, Frédéric R, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci*. 2012 Feb 14;109(7):2497–502.
48. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses. *Trends Immunol*. 2013 Mar 1;34(3):137–43.
49. Cheong JE, Sun L. Targeting the IDO1/TDO2–KYN–AhR Pathway for Cancer Immunotherapy – Challenges and Opportunities. *Trends Pharmacol Sci*. 2018 Mar;39(3):307–25.
50. Toulmonde M, Penel N, Adam J, Chevreau C, Blay J-Y, Le Cesne A, et al. Use of PD-1 Targeting, Macrophage Infiltration, and IDO Pathway Activation in Sarcomas: A Phase 2 Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2018 Jan 1;4(1):93.
51. Seeber A, Klinglmaier G, Fritz J, Steinkohl F, Zimmer K-C, Aigner F, et al. High IDO-1 expression in tumor endothelial

- cells is associated with response to immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2018 May;109(5):1583–91.
52. Long GV, Dummer R, Hamid O, Gajewski TF, Caglevic C, Dalle S, et al. Epcadostat plus pembrolizumab versus placebo plus pembrolizumab in patients with unresectable or metastatic melanoma (ECHO-301/KEYNOTE-252): a phase 3, randomised, double-blind study. *Lancet Oncol.* 2019 Aug;20(8):1083–97.
 53. Tang K, Wu Y-H, Song Y, Yu B. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors in clinical trials for cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol.* 2021 Dec;14(1):68.
 54. Smith C, Chang MY, Parker KH, Beury DW, DuHadaway JB, Flick HE, et al. IDO is a nodal pathogenic driver of lung cancer and metastasis development. *Cancer Discov.* 2012 Aug;2(8):722–35.
 55. Labadie BW, Bao R, Luke JJ. Reimagining IDO Pathway Inhibition in Cancer Immunotherapy via Downstream Focus on the Tryptophan–Kynurenine–Aryl Hydrocarbon Axis. *Clin Cancer Res.* 2019 Mar 1;25(5):1462–71.
 56. Liu Y, Liang X, Dong W, Fang Y, Lv J, Zhang T, et al. Tumor-Repopulating Cells Induce PD-1 Expression in CD8+ T Cells by Transferring Kynurenine and AhR Activation. *Cancer Cell.* 2018 Mar;33(3):480-494.e7.
 57. Prendergast GC, Mondal A, Dey S, Laury-Kleintop L, Muller AJ. Inflammatory reprogramming with IDO1 inhibitors: turning immunologically unresponsive 'cold' tumors 'hot.' *Trends Cancer.* 2018 Jan;4(1):38–58.
 58. Opitz CA, Somarribas Patterson LF, Mohapatra SR, Dewi DL, Sadik A, Platten M, et al. The therapeutic potential of targeting tryptophan catabolism in cancer. *Br J Cancer.* 2020 Jan 7;122(1):30–44.
 59. Jiang T, Qiao M, Zhao C, Li X, Gao G, Su C, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of advanced-stage cancer patients treated with immunotherapy: a meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother Cll.* 2018 May;67(5):713–27.
 60. Chen G, Huang AC, Zhang W, Zhang G, Wu M, Xu W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature.* 2018 Aug;560(7718):382–6.
 61. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, Schleifman E, Zou W, Li Y, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nat Med.* 2018 Sep;24(9):1441–8.
 62. Schalper KA, Carleton M, Zhou M, Chen T, Feng Y, Huang S-P, et al. Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors. *Nat Med.* 2020 May;26(5):688–92.
 63. Loriot Y, Marabelle A, Guégan JP, Danlos FX, Besse B, Chaput N, et al. Plasma proteomics identifies Leukemia Inhibitory Factor (LIF) as a novel predictive biomarker of immune-checkpoint blockade resistance. *Ann Oncol [Internet].* 2021 Aug 17 [cited 2021 Aug 18];0(0). Available from: [https://www.annalsofncology.org/article/S0923-7534\(21\)03978-8/abstract](https://www.annalsofncology.org/article/S0923-7534(21)03978-8/abstract)
 64. Botticelli A, Cerbelli B, Lionetto L, Zizzari I, Pisano A, Roberto M, et al. Abstract 5705: The key role of kynurenine in anti-PD-1 failure. *Cancer Res.* 2018 Jul 1;78(13 Supplement):5705–5705.
 65. Botticelli A, Cerbelli B, Lionetto L, Zizzari I, Salati M, Pisano A, et al. Can IDO activity predict primary resistance to anti-PD-1 treatment in NSCLC? *J Transl Med.* 2018 Aug 6;16:219.
 66. Li H, Bullock K, Gurjao C, Braun D, Shukla SA, Bossé D, et al. Metabolomic adaptations and correlates of survival to immune checkpoint blockade. *Nat Commun.* 2019 Dec;10(1):4346.
 67. Botticelli A, Mezi S, Pomati G, Cerbelli B, Cerbelli E, Roberto M, et al. Tryptophan Catabolism as Immune Mechanism of Primary Resistance to Anti-PD-1. *Front Immunol [Internet].* 2020 [cited 2021 May 10];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01243/full>
 68. Kocher F, Amann A, Zimmer K, Geisler S, Fuchs D, Pichler R, et al. High indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO) activity is linked to primary resistance to immunotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Transl Lung Cancer Res.* 2021 Jan;10(1):304–13.
 69. Riaz N, Havel JJ, Makarov V, Desrichard A, Urba WJ, Sims JS, et al. Tumor and Microenvironment Evolution during Immunotherapy with Nivolumab. *Cell.* 2017 Nov 2;171(4):934-949.e16.
 70. Yu C-P, Song Y-L, Zhu Z-M, Huang B, Xiao Y-Q, Luo D-Y. Targeting TDO in cancer immunotherapy. *Med Oncol Northwood Lond Engl.* 2017 May;34(5):73.
 71. Li P, Xu W, Liu F, Zhu H, Zhang L, Ding Z, et al. The emerging roles of IDO2 in cancer and its potential as a therapeutic target. *Biomed Pharmacother.* 2021 May 1;137:111295.
 72. Platten M, Wick W, Van den Eynde BJ. Tryptophan Catabolism in Cancer: Beyond IDO and Tryptophan Depletion. *Cancer Res.* 2012 Nov 1;72(21):5435–40.
 73. Prendergast GC, Malachowski WJ, Mondal A, Scherle P, Muller AJ. Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Its Therapeutic Inhibition in Cancer. In: *International Review of Cell and Molecular Biology [Internet].* Elsevier; 2018 [cited 2021 Jan 5]. p. 175–203. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1937644817300795>
 74. Schramme F, Crosignani S, Frederix K, Hoffmann D, Pilotte L, Stroobant V, et al. Inhibition of Tryptophan-Dioxygenase Activity Increases the Antitumor Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Immunol Res.* 2020 Jan 1;8(1):32–45.
 75. Lesterhuis WJ, Bosco A, Millward MJ, Small M, Nowak AK, Lake RA. Dynamic versus static biomarkers in cancer immune checkpoint blockade: unravelling complexity. *Nat Rev Drug Discov.* 2017 Apr;16(4):264–72.

V. Figures and tables

Figures and Tables

Figure 1. Impact of Kyn level, Trp level and Kyn/Trp ratio in patients treated with ICI in MATCH-R Discovery cohort.



A, Baseline Trp level and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

B, Baseline Kyn level and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

C, Baseline Kyn/Trp ratio and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

D, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

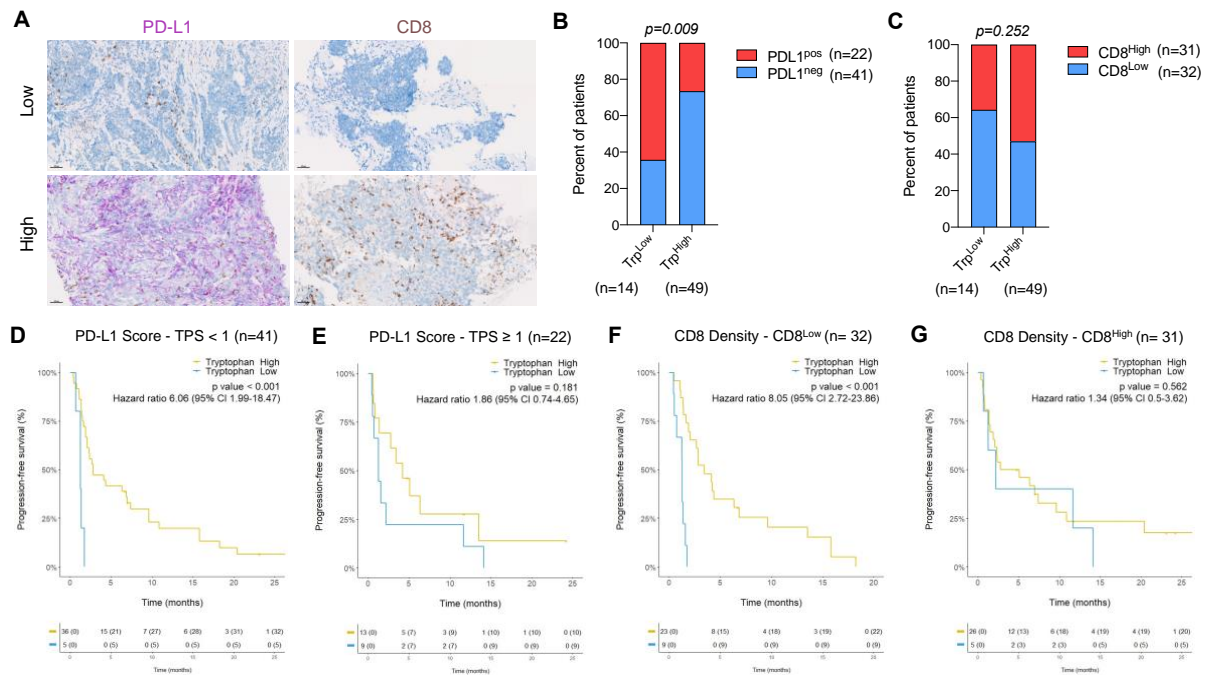
E, Progression-free survival (PFS) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

F, Overall survival (OS) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

* DCB, durable clinical benefit; Kyn: kynurenine; NDB: non-durable benefit, Trp: tryptophan.

All reported p values are of the t-tests and the chi-squared (χ^2) tests from the Cox regression analysis, and Kaplan-Meier curves of progression-free (log-rank test) and overall survival (log-rank test), adjusted as detailed in the methods section.

Figure 2. Impact of PD-L1 status, CD8 T-cell density and Trp level in patient treated with ICI in MATCH-R Discovery cohort.



A, PD-L1 status and CD8 T-cell density evaluated by immunohistochemistry in tumors: PD-L1^{Pos} (upper left), PD-L1^{Neg} (lower left), CD8^{Low} (upper right), CD8^{High} (lower right), respectively.

B, PD-L1 tumor status (PD-L1^{Neg} vs. PD-L1^{Pos}) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

C, CD8 T-cell density within tumor (CD8^{Low} vs. CD8^{High}) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

D, Progression-free survival (PFS) in PD-L1^{Neg} patients (TPS < 1) according to baseline Trp level.

E, Progression-free survival (PFS) in PD-L1^{Pos} patients (TPS \geq 1) according to baseline Trp level.

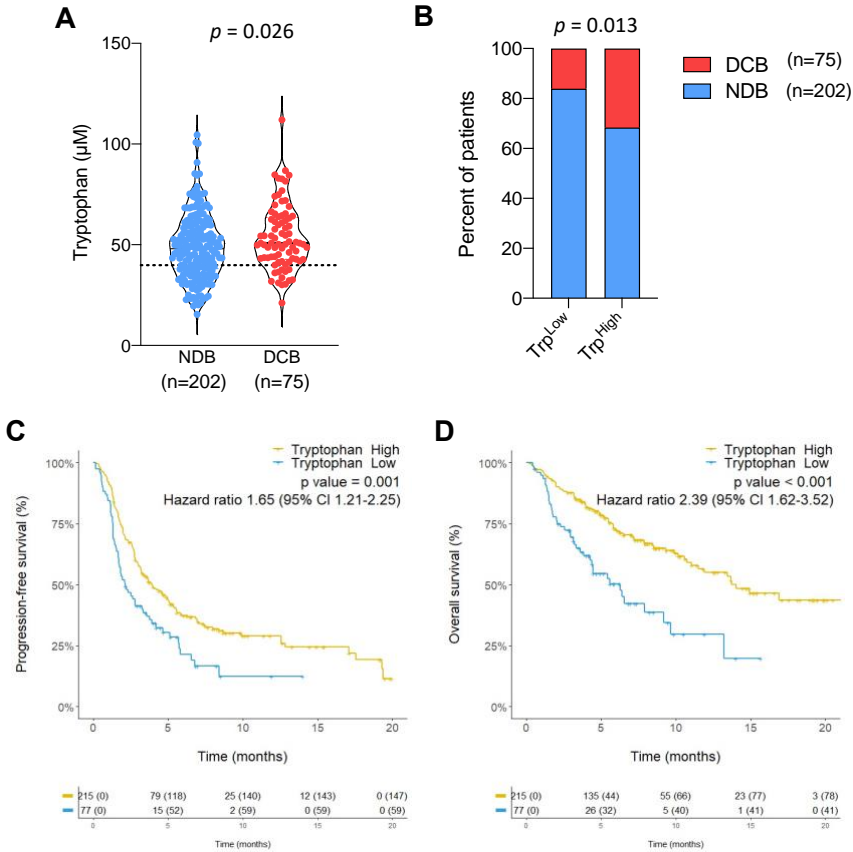
F, Progression-free survival (PFS) in CD8^{Low} patients according to baseline Trp level.

G, Progression-free survival (PFS) in CD8^{High} patients according to baseline Trp level.

* TPS: tumor proportion score.

All reported p values are of the t-tests and the chi-squared (χ^2) tests from the Cox regression analysis, and Kaplan-Meier curves of progression-free (log-rank test) and overall survival (log-rank test), adjusted as detailed in the methods section.

Figure 3. Impact of Trp level in patients treated with ICI in PREMIS Validation cohort.



A, Baseline Trp level and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

B, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

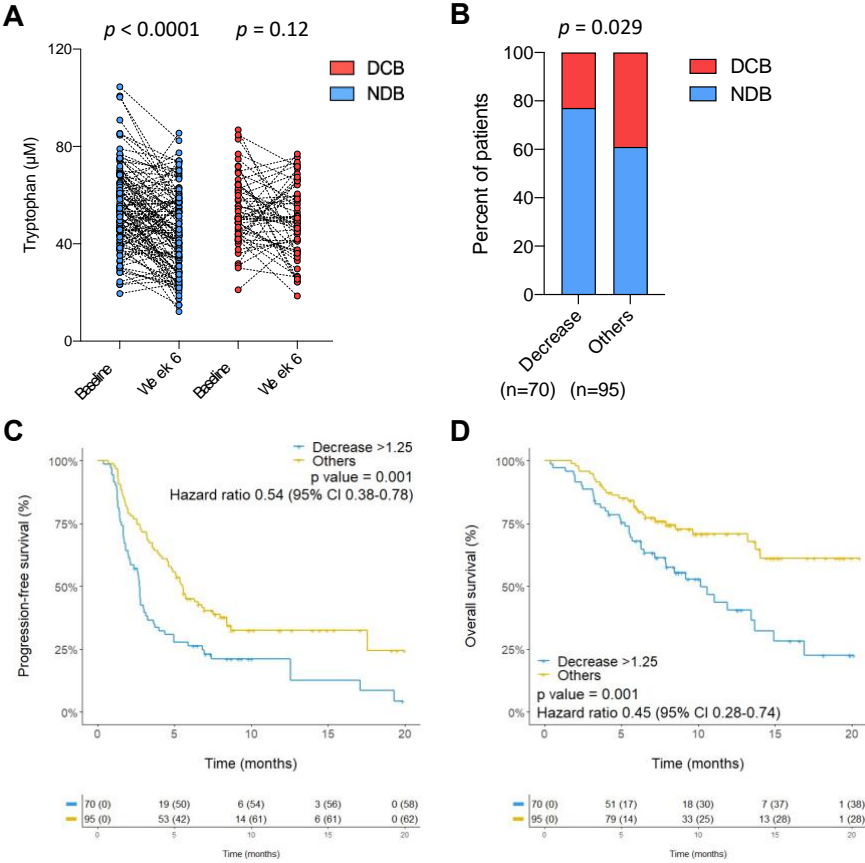
C, Progression-free survival (PFS) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

D, Overall survival (OS) in Trp^{Low} vs. Trp^{High} patients.

* DCB, durable clinical benefit; Kyn: kynurenine; NDB: non-durable benefit, Trp: tryptophan.

All reported p values are of the t-tests and the chi-squared (χ^2) tests from the Cox regression analysis, and Kaplan-Meier curves of progression-free (log-rank test) and overall survival (log-rank test), adjusted as detailed in the methods section.

Figure 4. Impact of Trp changes during ICI treatment in PREMIS Validation cohort.



A, Trp changes (baseline vs. week 6) and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

B, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Trp^{Decrease} vs. Trp^{Others} patients.

C, Progression-free survival (PFS) in Trp^{Decrease} vs. Trp^{Others} patients.

D, Overall survival (OS) in Trp^{Decrease} vs. Trp^{Others} patients.

* DCB, durable clinical benefit; Kyn: kynurenine; NDB: non-durable benefit, Trp: tryptophan.

All reported p values are of the t-tests and the chi-squared (χ^2) tests from the Cox regression analysis, and Kaplan-Meier curves of progression-free (log-rank test) and overall survival (log-rank test), adjusted as detailed in the methods section.

Table 1. Baseline clinicopathological characteristics of the MATCH-R Discovery cohort.

		N=100
Age - yr	Median	63.0
	Range	34-92
	<65 (%)	54 (54)
Sex - n (%)	Male	62 (62.0)
	Female	38 (38.0)
PS ECOG - n (%)	0	27 (27.0)
	1	56 (56.0)
	≥2	17 (17.0)
Cancer type - n (%) (≥10)	NSCLC	77 (77.0)
	Urothelial	13 (13.0)
	Other tumors*	10 (10.0)
Prognosis - n (%)	Poor (≤12 months)	57 (57.0)
	Good (>12 months)	43 (43.0)
Clinical benefit – n (%)	DCB**	24 (24.0)
	NDB**	76 (76.0)

* Others tumors: colorectal, thyroid, cholangiocarcinoma, duodenum, endometrial, melanoma, prostate.

** DCB: durable clinical benefit; NDB: non-durable benefit.

Abbreviations: PS ECOG : Performans Status Eastern Cooperative Oncology Group; NSCLC: non-small cell lung carcinoma.

Table 2. Baseline clinicopathological characteristics of the PREMIS Validation cohort.

		N=292
Age - yr	Median	62.0
	Range	25-99
	<65 (%)	165 (56.5)
Sex - n (%)	Male	173 (59.2)
	Female	119 (40.8)
PS ECOG - n (%)	0	105 (36.1)
	1	139 (47.8)
	≥2	47 (16.2)
Cancer type - n (%) (≥10)	NSCLC	110 (37.7)
	Melanoma	24 (8.2)
	Sarcoma	21 (7.2)
	Renal	19 (6.5)
	Urothelial	17 (5.8)
	Cutaneous SCC	12 (4.1)
	HNSCC	11 (3.8)
	Breast	10 (3.4)
	Colorectal	10 (3.4)
	Other tumors*	58 (19.9)
Liver metastasis - n (%)	Yes	72 (24.7)
	No	220 (75.3)
Lines of treatment - n (%)	1	92 (31.5)
	2	98 (33.6)
	3	40 (13.7)
	4+	34 (11.6)
	NA	28 (9.6)
	Range	1-11
Previous immunotherapy - n (%)	Yes	12 (4.1)
	No	230 (78.8)
	Unknown	50 (17.1)
Previous chemotherapy - n (%)	Yes	202 (69.2)
	No	76 (26.0)
	Unknown	14 (4.8)
Immunotherapy regimen - n (%)	Monotherapy	262 (89.7)
	Combination	30 (10.3)
Pre- and on-treatment samples – n (%)	Yes	165 (56.5)
	No	127 (43.5)
Prognosis - n (%)	Poor (≤12 months)	239 (81.8)
	Good (>12 months)	40 (13.7)
	Unknown	13 (4.5)
Clinical benefit - n (%)	DCB**	77 (26.4)
	NDB**	202 (69.2)
	NA	13 (4.4)

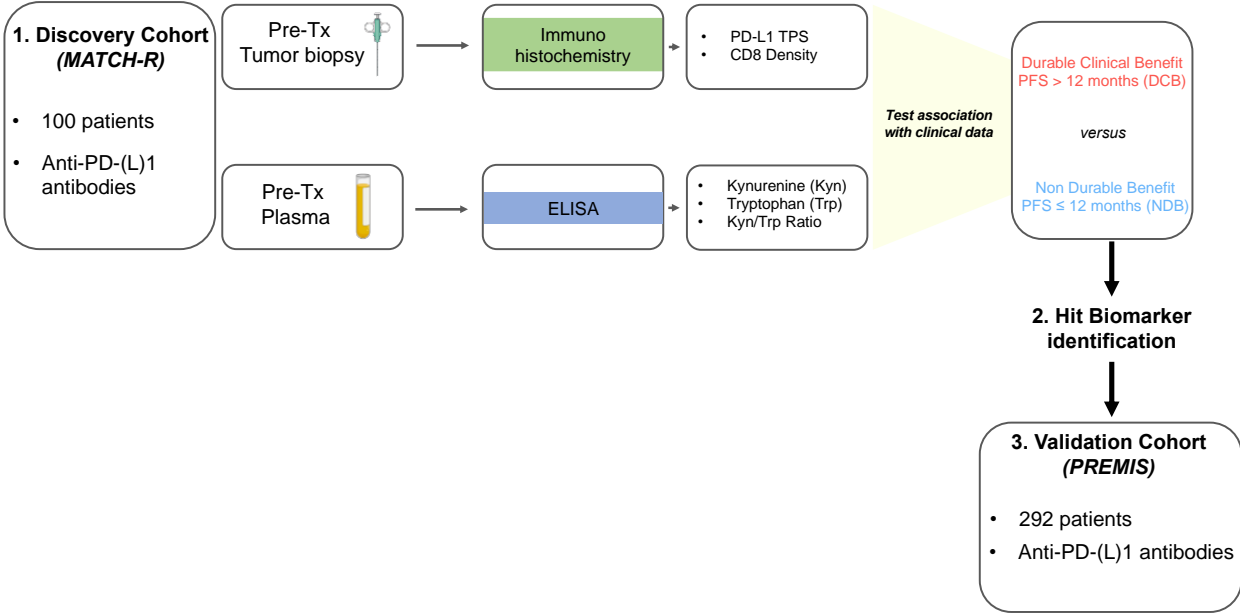
* Others tumors: cervix, gastric, ovarian, SCLC, esophagus, mesothelioma, thymic, HCC, Merkel cell carcinoma, prostate, CUP, thyroid, adrenal, anal, cholangiocarcinoma, endometrial, intestine, pancreas, testis.

** DCB: durable clinical benefit; NDB: non-durable benefit.

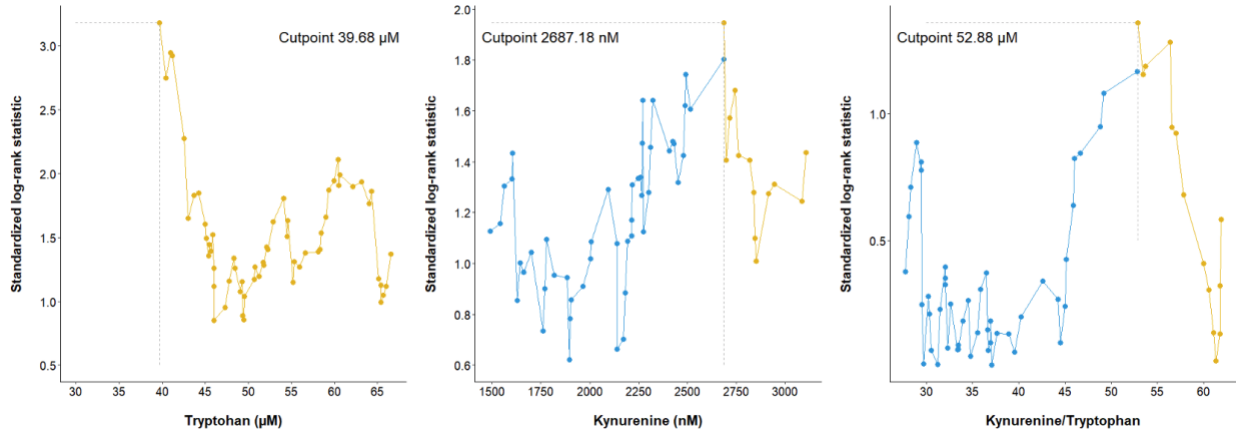
Abbreviations: CUP: carcinoma of unknown primary; HCC: hepatocellular carcinoma; HNSCC: head and neck SCC; NA: not available; NSCLC: non-small cell lung carcinoma; PS ECOG: Performans Status Eastern Cooperative Oncology Group; SCC: squamous cell carcinoma.

Supplementary Figures and Tables

Supplementary Fig. S1. General workflow of the ancillary analysis of MATCH-R and PREMIS studies.

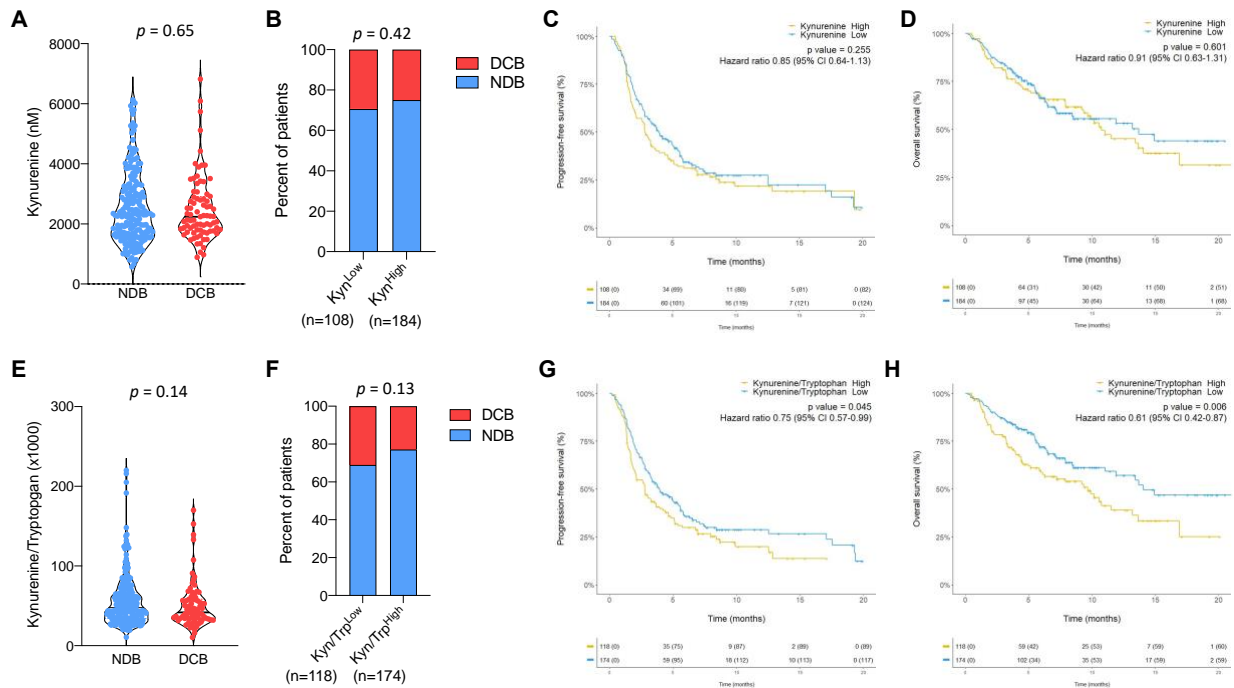


Supplementary Figure S2. Optimal cutpoint value calculation for Kyn, Trp and Kyn/Trp ratio in MATCH-R Validation cohort.



* The optimal cutpoint value was calculated using cutpointtr function from R *survminer* package (version 0.4.9).

Supplementary Figure S3. Impact of Kyn level and Kyn/Trp ratio in patients treated with ICI in PREMIS Validation cohort.



A, Baseline Kyn level and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

B, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Kyn^{Low} vs. Kyn^{High} patients.

C, Progression-free survival (PFS) in Kyn^{Low} vs. Kyn^{High} patients.

D, Overall survival (OS) in Kyn^{Low} vs. Kyn^{High} patients.

E, Baseline Kyn/Trp ratio and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

F, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Kyn/Trp^{Low} vs. Kyn/Trp^{High} patients.

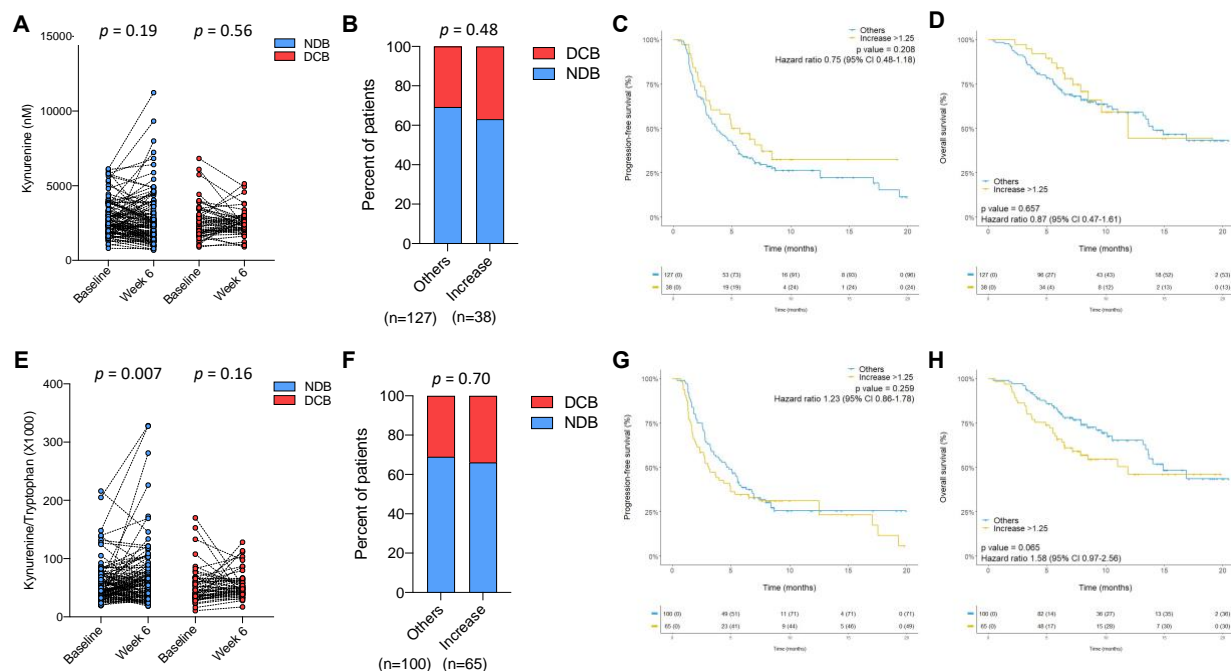
G, Progression-free survival (PFS) in Kyn/Trp^{Low} vs. Kyn/Trp^{High} patients.

H, Overall survival (OS) in Kyn/Trp^{Low} vs. Kyn/Trp^{High} patients.

* DCB, durable clinical benefit; Kyn: kynurenine; NDB: non-durable benefit, Trp: tryptophan.

All reported p values are of the t-tests and the chi-squared (χ^2) tests from the Cox regression analysis, and Kaplan-Meier curves of progression-free (log-rank test) and overall survival (log-rank test), adjusted as detailed in the methods section.

Supplementary Figure S4. Impact of Kyn and Kyn/Trp ratio changes during ICI treatment in PREMIS Validation cohort.



A, Kyn changes (baseline vs. week 6) and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

B, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Kyn^{Increase} vs. Kyn^{Others} patients.

C, Progression-free survival (PFS) in Kyn^{Increase} vs. Kyn^{Others} patients.

D, Overall survival (OS) in Kyn^{Increase} vs. Kyn^{Others} patients.

E, Kyn/Trp ratio changes (baseline vs. week 6) and clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB).

F, Clinical benefit outcomes (DCB vs. NDB) in Kyn/Trp^{Increase} vs. Kyn/Trp^{Others} patients.

G, Progression-free survival (PFS) in Kyn/Trp^{Increase} vs. Kyn/Trp^{Others} patients.

H, Overall survival (OS) in Kyn/Trp^{Increase} vs. Kyn/Trp^{Others} patients.

* DCB, durable clinical benefit; Kyn: kynurenine; NDB: non-durable benefit, Trp: tryptophan.

All reported p values are of the t-tests and the chi-squared (χ^2) tests from the Cox regression analysis, and Kaplan-Meier curves of progression-free (log-rank test) and overall survival (log-rank test), adjusted as detailed in the methods section.

Supplementary Table S1. Association between baseline clinicopathological characteristics and baseline Kyn level, Trp level and Kyn/Trp ratio in MATCHR Discovery cohort.

		N (%)	Serum Kyn (mean ± SD)	p-value	Serum Trp (mean ± SD)	p-value	Serum Kyn/Trp ratio (mean ± SD)	p-value
Total		N = 100	2461.81 ± 1193.27		54.09 ± 16.43		53.63 ± 52.75	
Age - yr	<65	54 (54.0)	2273.61 ± 1277.80	0.088	53.26 ± 16.47	0.59	51.59 ± 61.85	0.67
	≥65	46 (46.0)	2682.74 ± 1056.95		55.06 ± 16.52		56.04 ± 40.08	
Sex - n (%)	Male	62 (62.0)	2582.85 ± 1031.91	0.20	55.83 ± 16.35	0.18	53.33 ± 37.83	0.94
	Female	38 (38.0)	2264.34 ± 1410.59		51.26 ± 16.39		54.13 ± 71.32	
PS ECOG - n (%)	0	27 (27.0)	2212.21 ± 753.10	0.31	63.23 ± 16.01	<0.0001	37.06 ± 15.49	0.15
	1	56 (56.0)	2620.57 ± 1388.15		53.38 ± 15.41		58.18 ± 63.83	
	≥2	17 (17.0)	2335.29 ± 1026.87		41.91 ± 11.72		64.96 ± 46.40	
Cancer type - n (%) (≥10)	NSCLC	77 (77.0)	2367.60 ± 1238.06	0.27	52.81 ± 16.70	0.18	53.42 ± 56.46	0.64
	Urothelial	13 (13.0)	2942.90 ± 1052.64		54.90 ± 17.40		63.47 ± 48.14	
	Other tumors*	10 (10.0)	2561.85 ± 905.84		62.94 ± 10.42		42.46 ± 18.13	
Prognosis - n (%)	Poor (≤12 months)	57 (57.0)	2381.58 ± 1330.83	0.44	49.11 ± 15.52	0.00035	59.84 ± 66.63	0.18
	Good (>12 months)	43 (43.0)	2568.18 ± 987.19		60.69 ± 15.40		45.41 ± 22.77	
Clinical benefit – n (%)	DCB**	24 (24.0)	2793.82 ± 925.81	0.12	60.22 ± 15.64	0.035	49.47 ± 21.22	0.66
	NDB**	76 (76.0)	2356.97 ± 1253.11		52.16 ± 16.30		54.95 ± 59.40	

* Others tumors: colorectal, thyroid, cholangiocarcinoma, duodenum, endometrial, melanoma, prostate.

** DCB: durable clinical benefit; NDB: non-durable benefit.

Abbreviations: PS ECOG: Performance Status Eastern Cooperative Oncology Group; NSCLC: non-small cell lung carcinoma.

All reported p values are of the t-tests and analysis of variance (anova) tests as detailed in the methods section.

Supplementary Table S2. Association between baseline clinicopathological characteristics and baseline Kyn level, Trp level and Kyn/Trp ratio in PREMIS Validation cohort.

		N (%)	Serum Kyn (mean ± SD)	p-value	Serum Trp (mean ± SD)	p-value	Serum Kyn/Trp ratio (mean ± SD)	p-value
Total		N = 292	2567.91 ± 1204.55		50.26 ± 16.31		55.36 ± 32.57	
Age - yr	<65	165 (56.5)	2486.99 ± 1122.46	0.20	51.38 ± 16.26	0.19	51.09 ± 25.48	0.012
	≥65	127 (43.5)	2672.05 ± 1299.90		48.81 ± 16.35		60.86 ± 39.33	
Sex - n (%)	Male	173 (59.2)	2563.49 ± 1266.35	0.94	49.15 ± 15.23	0.18	56.42 ± 35.51	0.52
	Female	119 (40.8)	2574.12 ± 1117.30		51.82 ± 17.69		53.88 ± 28.02	
PS ECOG - n (%)	0	105 (36.1)	2554.16 ± 1185.33	0.30	51.34 ± 16.00	0.15	54.71 ± 34.57	0.89
	1	139 (47.8)	2661.90 ± 1256.19		50.86 ± 16.32		56.41 ± 32.96	
	≥2	47 (16.2)	2334.53 ± 1074.47		45.82 ± 16.90		54.27 ± 26.70	
Cancer type - n (%) (≥10)	NSCLC	110 (37.7)	2462.98 ± 1250.18	0.42	47.91 ± 16.73	0.47	56.39 ± 34.85	0.35
	Melanoma	24 (8.2)	2289.02 ± 890.59		51.12 ± 14.17		47.74 ± 24.04	
	Sarcoma	21 (7.2)	2474.34 ± 1189.67		50.39 ± 16.26		51.97 ± 27.95	
	Renal	19 (6.5)	2512.92 ± 1362.40		49.24 ± 15.48		52.51 ± 23.25	
	Urothelial	17 (5.8)	2805.63 ± 1487.73		52.92 ± 19.44		61.09 ± 50.32	
	Cutaneous SCC	12 (4.1)	3241.94 ± 1349.29		45.74 ± 12.24		79.45 ± 53.74	
	HNSCC	11 (3.8)	2733.71 ± 1462.58		59.38 ± 24.33		48.73 ± 24.19	
	Breast	10 (3.4)	3151.32 ± 1518.93		53.61 ± 19.62		62.23 ± 35.39	
	Colorectal	10 (3.4)	2748.99 ± 992.85		54.27 ± 12.86		51.52 ± 17.50	
	Others tumors*	58 (19.9)	2580.98 ± 1013.92		51.99 ± 14.71		53.08 ± 26.62	
Liver metastasis - n (%)	Yes	72 (24.7)	2553.81 ± 1133.62	0.91	51.35 ± 15.65	0.51	52.47 ± 25.21	0.32
	No	220 (75.3)	2572.55 ± 1229.53		49.90 ± 16.55		56.31 ± 34.65	
Lines of treatment - n (%)	1	92 (31.5)	2546.22 ± 1170.31	0.50	49.82 ± 17.23	0.23	56.95 ± 35.13	0.48
	2	98 (33.6)	2573.49 ± 1332.33		48.80 ± 15.83		57.39 ± 38.01	
	3	40 (13.7)	2399.76 ± 1000.97		53.46 ± 16.15		46.42 ± 17.85	
	4+	34 (11.6)	2507.32 ± 1245.20		47.57 ± 15.77		55.54 ± 28.15	
	NA	28 (9.6)	2925.58 ± 1100.68		55.05 ± 15.15		56.08 ± 24.97	
Previous immunotherapy - n (%)	Yes	12 (4.1)	2439.25 ± 903.29	0.0051	48.44 ± 15.42	0.66	53.97 ± 23.90	0.16
	No	230 (78.8)	2461.57 ± 1152.63		49.95 ± 16.54		53.63 ± 32.21	
	Unknown	50 (17.1)	3072.55 ± 1376.45		52.08 ± 15.69		63.42 ± 35.26	
Previous chemotherapy - n (%)	Yes	202 (69.2)	2544.81 ± 1199.79	0.24	50.19 ± 15.87	0.59	54.56 ± 32.12	0.83

	No	76 (26.0)	2527.26 ± 1166.30		49.63 ± 17.36		57.01 ± 35.75	
	Unknown	14 (4.8)	3098.04 ± 1424.94		54.49 ± 17.22		57.69 ± 20.08	
Immunotherapy regimen - n (%)	Monotherapy	262 (89.7)	2605.80 ± 1202.45	0.11	50.31 ± 16.45	0.87	56.31 ± 33.04	0.14
	Combination	30 (10.3)	2214.36 ± 1188.15		49.77 ± 15.36		46.58 ± 26.80	
Prognosis - n (%)	Poor (≤12 months)	239 (81.8)	2517.42 ± 1220.13	0.09	48.81 ± 16.27	0.00025	56.15 ± 34.23	0.33
	Good (>12 months)	40 (13.7)	2869.60 ± 1071.67		58.93 ± 13.91		50.67 ± 19.67	
	Unknown	13 (4.5)	NA		NA		NA	
Clinical benefit – n (%)	DCB**	77 (26.4)	2489.10 ± 1203.37	0.50	48.71 ± 15.70	0.33	54.93 ± 29.97	0.89
	NDB**	202 (69.2)	2597.95 ± 1206.62		50.84 ± 16.55		55.52 ± 33.58	
	NA	13 (4.4)	NA		NA		NA	

* Others tumors: cervix, gastric, ovarian, SCLC, esophagus, mesothelioma, thymic, HCC, Merkel cell carcinoma, prostate, CUP, thyroid, adrenal, anal, cholangiocarcinoma, endometrial, intestine, pancreas, testis.

** DCB: durable clinical benefit; NDB: non-durable benefit.

Abbreviations: CUP: carcinoma of unknown primary; HCC: hepatocellular carcinoma; HNSCC: head and neck SCC; NA: not available; NSCLC: non-small cell lung carcinoma; PS ECOG: Performance Status Eastern Cooperative Oncology Group; SCC: squamous cell carcinoma.

All reported p values are of the t-tests and analysis of variance (anova) tests as detailed in the methods section.

PARTIE 3 – REVUE DE LA LITTÉRATURE

Targeting Tryptophan Catabolism in Cancer Immunotherapy Era: from Basic Research to Clinical Application

Florent Peyraud^{1,4}, Jean-Philippe Guegan², Dominique Bodet², Sophie Cousin¹, Alban Bessede²,
Antoine Italiano^{1,3,4}

1. Department of Medical Oncology, Institut Bergonié, 33000 Bordeaux, France.
2. ImmuSmol, 33000 Bordeaux, France.
3. Early Phase Trials and Sarcoma Unit, Institut Bergonié, 33000 Bordeaux, France.
4. University of Bordeaux, 33076 Bordeaux, France.

Keywords: indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptophan catabolism, aryl hydrocarbon receptor, kynurenine, immunotherapy, immune checkpoint inhibitor.

Suggested journal: Frontiers in Immunology (*agreement for submission*)

Abstract

Metabolism of the essential amino acid tryptophan (Trp) is a key metabolic pathway that both promotes tumor cell intrinsic malignant properties as well as restricts antitumor immunity, thus emerging as a drug development target for cancer immunotherapy. Three cytosolic enzymes, indoleamine 2,3-dioxygenase 1 and 2 (IDO1/2) and tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO), catalyzes the first-rate limiting step of the degradation of Trp to kynurenine (Kyn) and modulates immunity toward immunosuppression mainly through the aryl hydrocarbon receptor (AhR) activation in numerous types of cancer. By restoring antitumor immune responses and synergizing with other immunotherapies, the encouraging preclinical data of IDO1 inhibitors has dramatically failed to translate into clinical success when combined with immune checkpoints inhibitors, reigniting the debate of combinatorial approach. Various compounds are currently being tested in clinical trials, mainly as an adjunct to other treatment modalities such as immune checkpoint inhibitors. In this review, we provide comprehensive background information on immunomodulatory role of the Trp catabolism metabolites that highlight this pathway as relevant target in immuno-oncology. We also discuss disappointing results yielded by IDO1 inhibitors and mechanisms that might have contributed to this failure. Finally, we discuss the current state-of-art surrounding alternative approaches of novel anticancer immunotherapies targeting both the upstream and downstream effector molecules of Trp catabolism as well as challenges and perspectives in the era of immunotherapy.

I. Introduction

Over the last decade, tumor immune escape has been considered as a new paradigm that promotes tumor growth and evasion, thus appearing as an attractive therapeutic strategy (1). In this regard, recent success in immunotherapies with immune checkpoint inhibitors (ICIs), including biologic drugs targeting the programmed death receptor/ligand 1 (PD-1/PD-L1) and cytotoxic T lymphocyte associated protein 4 (CTLA-4), has revolutionized the oncology field and afforded patients with various types of cancer the potential for long-term survival (2). Traditionally, anticancer modalities (such as chemotherapy, irradiation, and targeted therapies) exert their therapeutic effects by directly killing proliferating cancer cells. Their efficacy has been limited by toxicity and by rapid development of resistance. In contrast, cancer immunotherapies aim to harness the immune system to eradicate cancer cells and control tumor growth. The clinical use of ICIs illustrates the success in struggling cancer by enhancing T cell-mediated adaptive antitumor immune response.

In the context of cancer, tumor cells acquire the ability to inhibit the expansion and function of effector T cell through upregulation of immune checkpoint molecules, including PD-1 and CTLA-4. Similarly, PD-1 and CTLA-4 are frequently expressed by various immune cells in the tumor microenvironment (TME) and negatively regulate the effector functions of T cells. Thereby, ICIs prevent engagement of PD-1 and CTLA-4 with their corresponding ligands, enabling the immune system to mount potent antitumor immune response by reinvigorating T cells against cancer cells. Consequently, ICIs in clinical care has delivered meaningful clinical benefit across multiple solid tumors. Despite the widening approval of ICIs against an ever growing list of malignancies, the majority of patients do not derive benefit or develop early resistance (3). Patients identified as likely to respond from ICIs include those with tumors harboring a T-cell inflamed phenotype in the TME, suggesting immunosuppressive mechanisms that contribute to ICI failure (4–6). Therefore, novel strategies capable of converting immunosuppressive TME to inflammatory tumors may portend a paradigm shift in cancer immunotherapy.

Specific clinical focus has increasingly centered on the metabolic mechanisms of immunosuppression exerted by the tryptophan-kynurenine-aryl hydrocarbon receptor (Trp-Kyn-AhR) pathway in the TME. The Trp catabolism is physiologically regulated by indoleamine 2,3-dioxygenase 1 and 2 (IDO1/IDO2), tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO), kynureninase and downstream signaling of Trp catabolites as agonists of AhR. Pivotal research has revealed that Kyn is a key signaling molecule that can transduce the immunosuppressive effects of IDO1 and TDO (7). In preclinical models, enhanced activity of the Trp-Kyn-AhR pathway has been correlated to impairment of antitumor immunity and tumor growth (8–10). More recent characterization of AhR has revealed multiple mechanisms by which it engenders a tolerogenic immune milieu (11). Therefore, Trp catabolism pathway is considered as a critical step in tumor cell evasion of the innate and adaptive immune systems (12,13). Furthermore, IDO1 has been shown to participate in mechanisms of resistance to checkpoint inhibitors (14), making the combination of an IDO1 inhibitor with ICI an attractive strategy. To date, the multiple IDO1 inhibitors tested alone or combined with ICI in clinical trials have provided

disillusioning results. However, deeper biological and pharmacological insights in Trp catabolism have brought renewed hopes for targeting this pathway in the anticancer immunotherapy era.

In this review, we summarize the immunomodulatory role of the Trp-Kyn-AhR pathway in the context of cancer. We then provide updates on recent advances in the development of novel anticancer immunotherapies targeting both the upstream and downstream effector molecules of Trp catabolism and finally discuss upon the current challenges and future perspectives in the field of immuno-oncology.

II. Immunomodulatory role of the Trp catabolism pathway in cancer

Considered as an essential amino acid, Trp must be taken from the diet to support physiological processes, including cell growth and maintenance (15). Trp is generally utilized in three major metabolic routes: incorporation into proteins, production of serotonin, and breakdown into kynurenine (Kyn). Three enzymes catalyze the committing and rate-limiting step of the Kyn pathway (KP) that transforms Trp into a series of biologically active second metabolites: IDO1, IDO2 and TDO (**Figure 1**)(16–18). Contrary to the uncertain role and regulation of IDO2, IDO1 and TDO are well-characterized intracellular heme-containing metalloproteins that are responsible for the metabolism of a majority of the Trp intake. IDO1 is an inducible enzyme that is produced widely in many tissues and cells, including endothelial cells, and cells that in part constitute the TME, including fibroblasts, antigen-presenting cells (APCs such as dendritic cells (DCs) and macrophages), and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)(19). IDO1 recognizes a broad range of indole-containing substrates and is being upregulated by the interplay of inflammatory cytokines, including the pivotal immune regulatory Th1 cytokine interferon γ (IFN- γ) and interleukin-6 (IL-6)(20–22). By contrast, TDO is predominantly expressed in the liver and presumably plays a key role in maintaining homeostasis of Trp levels as specific enzyme for metabolizing Trp to Kyn. TDO is regulated by Trp, cholesterol and the lipid metabolite prostaglandin E2 (PGE₂)(23). The cancer-promoting role of KP enzymes was first reported in 2005 (24). Indeed, IDO1 was found to support tumor formation by inhibiting T-cell-dependent immunity via its enzymatic function. As a part of concerted mechanisms that occur in the TME, a multitude of cancer cells constitutively express or upregulate IDO1, TDO, or both, and coerce stromal and tumor-infiltrating immune cells, such as DCs and MDSCs, to express IDO1, supporting evasion of immunosurveillance (25–30).

Several multifaceted mechanisms have been proposed to explain the role of Trp catabolic pathway in tumor-associated immunosuppression (**Figure 1**). First, Trp depletion induced by IDO1 in the TME suppress the mammalian target of rapamycin (mTOR) complex 1 (mTORC1) pathway and activate the integrated stress response kinase general control over nonderepressible 2 (GCN2) in tumor-infiltrating T cells, leading to their anergy and apoptosis (31–33). In response to low levels of Trp, the serine/threonine kinase GCN2 phosphorylates eukaryotic initiation factor 2 α kinase (eIF2 α), resulting in decreased protein production (34). Moreover, IDO1-activated GCN2 inhibits fatty acid in naïve T cells, which is important for T cell proliferation and activity (35). However, recent studies have questioned the hypothesis by which suppression of anti-tumor immune responses by Trp metabolism is driven by local Trp starvation and subsequent GCN2-mediated T cell anergy. In preclinical mouse melanoma models, GCN2-deficient T cells showed equal effect to wild-type T cells against B16 melanoma, highlighting that immune regulation by GCN2 is presumably context-dependent (36). Furthermore, GCN2 is a common sensor of amino acid starvation that is not specific to Trp (37). Thus, further studies are required to unravel the specific role of GCN2 in Trp depletion-associated immunosuppression.

A second postulation has emerged when the Trp catabolite Kyn and its downstream metabolites were recognized as potent endogenous ligand of the AhR (11,26,38–40). Numerous investigations have revealed a complex and central role of AhR in inducing tolerogenic immune responses (41). Within a specific context, AhR regulates the functions of multiple cells of both innate and adaptive immune system, including DCs, macrophages, natural killer (NK) cells, innate lymphoid cells (ILCs), type 17 helper (Th17) cells, Th22 cells and regulatory CD4 T (Tregs) cells (**Figure 2**). Ligand-activated AhR translocates from cytosol to the nucleus and binds to response elements in the promoter regions of the corresponding target genes. Kyn-mediated AhR activation was shown to induce the death of CD8 T cells and upregulate the expression of PD-1 in CD8 T cells as well as to stimulate the differentiation of Tregs cells (40,42–44). AhR activation also upregulates the expression genes encoding IL-6 in cancer cells and macrophages (22,45). The proinflammatory cytokine IL-6 and the immunosuppressive PGE2 enhance the activity of both IDO1 and TDO, respectively, which fosters signaling by Kyn and AhR. In the TME, AhR suppresses the innate antitumor immune response of DCs and promote the production of IL-10 by NKs, a potent anti-inflammatory cytokine (39,46,47). The action of AhR in NK cells also promotes the production of IFN- γ , a potent tumoricidal cytokine that also upregulates IDO1 expression (46). AhR interacts with the transcription factor c-Maf to promote the development of Tregs, another major source of IL-10 (48). IL-10 contributes to the differentiation, proliferation and maintenance of Tregs, which impairs the maturation and function of cytotoxic CD8 T cells (CTLs)(49). IL-10 also promotes the development and proliferation of tolerogenic DCs (tDCs), tumor-associated macrophages (TAMs), and MDSCs that populate the TME to support angiogenesis and tumor immune escape (50,51). Furthermore, type I IFN produced by DCs potently induces IDO1, which serves as a cell-autonomous control of type I IFN and antagonizes its antitumor effects (52). Similarly, type I IFN responses are also negatively regulated by AhR activation, which upregulates the expression of the 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (TCDD)-inducible poly(ADP-ribose) polymerase (TiPARP), leading to inactivation of interferon regulatory factors (IRFs), thus impairs the interferon- β (IFN- β) response that is required for antitumor immunity (53). In addition to the formation of Kyn-related ligands, AhR is also modulated by various Trp-derived AhR agonists, including 6-formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) and 2-(1'H-indole-3'-carbonyl)-thiazole-4-carboxylic acid methyl ester (ITE). *In vitro*, treatment of native T lymphocyte with the high-affinity ligand FICZ increase the suppressive Treg and inflammatory Th17 populations (54). Similarly, activation of AhR with ITE *in vitro* causes significant increases in Treg cells in the spleen and blood of the treated mice (55). Altogether, the activation of AhR by Trp-derivative ligands dampens the innate and adaptive immune responses to lend further support to tumor growth.

Besides the immunomodulatory effects of ligand-activated AhR that jeopardize the tumoricidal immunity, a contrarian view suggests that AhR activation may also drive an antitumor immune response. *In vitro* and mouse models of AhR-expressing NK cells demonstrated enhanced IFN- γ production and cytolytic activity when treated with FICZ. In addition, FICZ-related activation of AhR in NK cells inhibited the growth of RMA-S murine lymphoma tumor cells in a wild-type immunocompetent mice as well as that of B16 melanoma tumors in *Rag^{-/-}* immunocompromised mice (56). Similarly, human NK cells treated with the AhR agonist FICZ in combination with IL-2 increased degranulation

and cytotoxicity (57). In myeloid cells, ligand-activated AhR turned the polarization of monocyte differentiation toward monocyte-derived DCs over monocyte-derived macrophages, thus promoting the production of proinflammatory cytokine IL-23 and the formation of Th17 cells (58). These complex and opposite networks established that these immune responses induced by ligand-activated AhR are presumably context- and ligand-dependent, thus requiring further investigations, particularly in the immunotherapy era.

It is of note that IDO1 expression is associated with other immune checkpoints, most notably PD-L1 and CTLA-4, supporting the concept of their joint targeting for synergistic antitumor effect (59). Association between the Trp-Kyn-AhR pathway and PD-1/L1 was suggested by the observation that both pathways are induced by IFN- γ in the TME. In response to pathogens, such as tumor-associated antigen, the tumoricidal cytokine IFN- γ is secreted by CTLs, which is directly responsible for the antitumor effect of CTLs. Conversely, IFN- γ also induces the expression of IDO1 and PD-L1, thus attenuating the cytotoxicity of CTLs (60). In tumor-associated macrophages (TAMs), Kyn-mediated activation of AhR induces a tolerogenic phenotype by regulating the expression of immunosuppressive molecules such as PD-L1 (61). Moreover, across 30 human solid tumors from The Cancer Genome Atlas (TCGA), the gene expression of *IDO1* was strongly correlated with the expression of PD-1 across increasing level of IFN- γ -responsive gene expression from non-T cell-inflamed to highly T cell-inflamed tumors (62). To note, expression of *IDO2*, *TDO*, *KYNU*, *AHR*, and *GCN2* did not correlate with *PD-1* expression or demonstrate IFN- γ responsiveness on a transcriptional level (62). In melanoma, cancer cells develop resistance to anti-CTLA-4 therapy by the upregulation of IDO1 (63). Similarly, cancer cells can simultaneously upregulate multiple immunosuppressive mechanisms, and the combination of IDO1 inhibitor with PD-1/L1 and CTLA-4 antibodies showed significant synergistic antitumor efficacy in mouse models of brain cancer and melanoma (14,63,64). Thereby, IDO1 provides integral support for tumor-promoting inflammation, advocating for its development as a therapeutic target in combination with ICI.

Taken together, these preclinical results unveil an intricate signaling network between the Trp metabolic enzymes IDO1/TDO, the KP metabolite Kyn and the ligand-activated transcription factor AhR, which is deregulated by cancer cells to hijack antitumor immunity and develop resistance to anticancer therapies, including ICIs. Mounting evidence illuminates IDO1 as a pivotal player that bridges inflammation, vascularization and immune escape, and drives the failure of ICI (63,65). Recent research further revealed that IDO1 is closely linked to both CTLA-4 and PD1/PD-L1 via complex pathways. In mouse model, Tregs initiated the expression of IDO1 and Trp catabolism in DCs through a CTLA-4-dependent mechanism (66). Moreover, IDO1 expression in DCs was induced by the interaction of PD-1 with PD-L1 on the surface of mast cells and/or with PD-L2 on the surface of DCs that stimulated Tregs (67). In addition, PD-1 signaling acted to stabilize IDO1-activated Treg in tumors, preventing them from reprogramming into inflammatory effector cells (68). These data emphasize the use of combinatorial strategies of ICI with IDO1 inhibitors. In a mouse model of B16 melanoma, CTLA-4 blockade strongly synergized with IDO1 inhibitors to mediate rejection of both IDO1-expressing and nonexpressing poorly immunogenic tumors in a T cell dependent manner, emphasizing the importance of the inhibitory role of both tumor- and host-derived IDO1 (63). Moreover, the Kyn-AhR interaction

has been shown to upregulate PD-1 expression by CD8 T cells in the TME, which could potentially be reinvigorated by anti-PD-1/PD-L1 drugs (42). In clinical care, several IDO1 inhibitors have predominantly been tested in combination with other treatment modalities, such as ICIs, but providing disappointing results. Multiple approaches are ongoing to target the IDO1/TDO2-Kyn-AhR signaling circuitry, notably in combination with immunotherapy.

III. Clinical development of IDO1 inhibitors and Trp-Kyn-AhR pathway modulators

The IDO1 enzyme is broadly expressed in many human cancers in tumor, stromal, vascular and immune cells within the TME where its expression tends to be associated with poor prognosis (69,70,29). Given the critical biological importance of IDO1 in antitumor immunotherapy, IDO1 and its surrounding pathways have become an attractive target for cancer treatment. Besides the large number of selective IDO1 inhibitors reported, several biochemical strategies exist to inhibit the Trp-Kyn-AhR pathway, aiming at regulate mediators of antitumor immunity (**Table 1**). Thus, combination with ICI has held great promises, aiming to improve efficacy or to overcome resistance to ICI. To date, IDO1 inhibitors have predominantly been evaluated in clinical trials alone or in combination with other treatment modalities, such as ICIs. Additional pharmacological candidates have entered in clinical development and focus on targeting downstream of IDO1/TDO. We will outline three different strategies that tackle the IDO1/TDO-Kyn-AhR signaling circuitry in cancer treatment: (i) inhibition of IDO1/TDO by IDO1 inhibitors, (ii), systemic depletion of Kyn by engineered kynureninases, and (iii) inhibition of AhR activation by synthetic AhR modulators (**Table 2**).

1. Clinical development of IDO1 inhibitors

Since the first description of indoximod as an IDO1 pathway inhibitor, several other IDO1 inhibitors have been generated to prevent the formation of the AhR ligand Kyn. Except indoximod, selective IDO1 inhibitors enzyme either compete with Trp for the catalytic site of IDO1 or bind the enzyme with very high affinity. Most of these molecules were evaluated in a combinatorial approach with ICI (**Table 1**).

Epacadostat (INCB24360) is an orally available IDO1-selective inhibitor that is still under active clinical investigation. Competing with Trp for binding to the catalytic domain of IDO1, epacadostat demonstrated relatively modest inhibitory activities against Kyn synthesis in a human IDO1 enzymatic assay and un a human blood assay, with essentially no activity against TDO (71). Inhibition of IDO1 catalytic activity by epacadostat inhibited Treg proliferation induced by human DCs stimulated with IFN- γ that induced IDO1 expression. In *in vitro* tumor cell lysis assays, T cells stimulated with epacadostat-treated DCs produced significantly more IFN- γ and displayed higher potency (72). In cocultures of human allogeneic lymphocytes with DCs or tumor cells, epacadostat promoted the growth of effector T cells and NK cells, reduced conversion of naive T cells to Tregs, and increased the number of DCs (25). In immunocompetent C57BL/6 mouse syngeneic models of pancreatic and colorectal cancers, epacadostat was found to inhibit tumor growth. This antitumor efficacy was abolished in immunodeficient mice, supporting an immune-mediated antitumor response (73). The combination of epacadostat with anti-PD-1 antibody significantly improved survival of C57BL/6 mice implanted intracranially with murine GL261 glioblastoma, suggesting a potential synergistic effect of the combinatorial treatment (74). In a clinical trial conducted in patients with cancer receiving epacadostat, Kyn concentration in plasma indicated 80-90% inhibition of IDO activity at dose levels at or above 100mg twice daily. To note, no objective response was observed in

advanced cancer patients when dosed as monotherapy (75). This lack of activity was evident in two phase II studies in patients with myelodysplastic syndrome or advanced ovarian cancer, leading to refocus IDO1 inhibitors in combination with approved anticancer drugs (76,77). Owing to the strong rationale to combine an IDO1 inhibitor with ICI, ipilimumab (anti-CTLA4 antibody), nivolumab (anti-PD-1 antibody), or pembrolizumab (anti-PD-1 antibody) have been evaluated with epacadostat for the treatment of, among others, melanoma, non-small cell lung cancer (NSCLC), colorectal cancer (CRC), head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) and renal-cell carcinoma (RCC). Despite the seeming acceptable safety profile and promising preliminary results from phase I/II trials in various tumor types, the combination of epacadostat with ICI have displayed unexpected results in phase III trials. In ECHO-301/KEYNOTE-252, epacadostat or placebo combined with pembrolizumab did not improve progression-free survival (median PFS 4.7 vs. 4.9 months, HR 1.00, P = 0.52) and overall survival (median OS NR, HR 1.13, P = 0.81) in patients with unresectable or metastatic melanoma (78). Multiple explanations have been raised to understand these negative results and among them, inappropriate dosing of epacadostat. Indeed, a recent pooled analysis of epacadostat clinical studies identified that a dose of 600 mg BID is required for maximal pharmacodynamic effect in anti-PD-1 combination studies (79). Therefore, the POD1UM-102 study (NCT03589651) is currently evaluating the combination of a novel anti-PD-1 monoclonal antibody, namely retifanlimab, plus epacadostat doses up to 900 mg BID (**Table 2**).

Navoximod (NLG-919 or GDC-0919) is an orally bioavailable noncompetitive IDO1 inhibitor that potently inhibited IDO1-induced T cell suppression and restored robust T cell responses in *in vitro* assay (80). In preclinical syngeneic mouse B16 melanoma models, combination of navoximod with PD-1/L1 inhibitors generated synergistic antitumor response, where increased CTL/Tregs ratios, plasma IFN- γ levels and activated intratumoral macrophages and DCs were noted, arguing for clinical development (81,82). In contrast to the promising results obtained from epacadostat in early phase trials, there was no clear evidence of benefit from coadministration of navoximod with atezolizumab (anti-PD-L1 antibody) in patients with advanced solid tumors (83).

Linrodostat (BMS-986205 or F001287) is considered as the most potent IDO1 selective inhibitors with no activity against TDO (84). Linrodostat demonstrated strong activity in *in vitro* assay in which T cells were cocultured with IDO1-expressing DCs. In addition to the well-tolerated profile, patients with advanced solid cancers receiving linrodostat plus nivolumab reported substantial serum and intratumoral Kyn reduction, supporting further evaluation in late-stage clinical studies (85). To date, several ongoing trials evaluate linrodostat with ICI in different type of cancers.

PF-06840003 (EOS200271) is another orally bioavailable and highly selective Trp noncompetitive IDO1 inhibitor that entered first-in-human early phase trial in patients with recurrent malignant glioma (86). One advantage of this candidate compound is its ability to cross the blood-brain barrier that may enable efficient access to brain metastases. Only limited data have been reported but preclinical evidence indicated that PF-06840003 was able to reverse IDO1-induced T cell anergy *in vitro*, and reduced intratumoral Kyn level in mice (87). When combined with PD-L1 blockade avelumab, PF-06840003 demonstrated inhibition of tumor growth in multiple syngeneic mouse tumor

models but failed to achieve significant efficacy in phase I trial. To date, no study is ongoing with PF-06840003, either alone or in combination with ICI.

In contrast with other IDO1 inhibitors, indoximod (1-methyl-D-tryptophan, D-1MT, or NLG-8189) is a Trp mimetic with pleiotropic effects on downstream Kyn-AhR pathway signaling. It relieves IDO1-mediated immunosuppression by at least two mechanisms: (i) modulation of AhR-dependent transcriptional activity and (ii) serving as an artificial Trp-sufficiency signal that prevents activation of GCN2 and inhibition of mTORC1 (88–90). Indeed, indoximod enhanced activity and proliferation of CD8 T cells by limiting Trp depletion-mediated mTORC1 suppression. Indoximod also demonstrated to stimulate CD4 T cell differentiation to Th17 helper T cells, inhibit Tregs, and downregulate expression of IDO1 in DCs through an AhR-dependent manner (91). Adding indoximod was shown to safely heighten the efficacy of anti-PD-1 in melanoma patients (92). In a single-arm phase II trial, indoximod plus anti-PD-1 in advanced melanoma achieved antitumor efficacy that is worth further evaluation in selected patients (93). However, clinical development of indoximod is currently at a standstill.

Recently, a prodrug form of indoximod termed NLG-802 has been reported to increase clinical drug exposure above the current achievable levels, thus increasing the possibility of therapeutic effects in a larger fraction of patients (94). In addition to the aforementioned IDO1 inhibitors, some other small molecules have fared clinical development, including as LY3381916, MK-7162 and KHK2455, alone or combined with ICI. For example, LY3381916 is a highly selective and potent inhibitor of IDO1 that was evaluated alone or in combination with an anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer (95). No clear clinical activity was detected, thus warranting further investigations.

In the wake of epacadostat failure in late-stage trials, most of IDO1 inhibitors have been scaled back in their clinical development, although randomized studies are still ongoing or planned (**Table 2**). Perhaps of most relevance to the failure of IDO1 inhibitors is the open question of intratumoral pharmacodynamics. Given the lack of knowledge whether limiting Trp depletion versus suppression of Kyn acts as primary mechanism of immunosuppression, even very low levels of canonical AhR ligands can activate AhR-associated gene expression and recent preclinical studies have suggested kynureninase and direct AhR inhibitors display higher potency relative to IDO-1 selective inhibitors (96,97).

2. Recombinant kynureninases

Once produced from Trp via IDO1/TDO catabolic activity, Kyn is a substrate of multiple downstream intracellular routes along the KP (**Figure 1**). Physiologically, kynureninase is an enzyme that catalyzes the synthesis of anthranilic acid from Kyn, and of 3-hydroxyanthranilic acid (3-HAA) from 3-hydroxykynurenine. Kyn is readily exported and taken up by cells via large neural amino acid transporter system that also regulates the cellular uptakes of Trp (12).

One emerging approach relies on the prevention of Kyn engagement with AhR. To this end, the development of recombinant kynureninases aims to enzymatically deplete the extracellular pool of Kyn, thus hampering the Kyn-AhR interaction that promote tumor-associated immunosuppression (98–

100). Engineered from the bacterial kynureninase enzyme, recombinant kynureninase more effectively converts Kyn into immunologically inactive downstream metabolites than does the endogenous kynureninase. Multiple lines of evidence suggest that enzyme-mediated Kyn depletion is a promising cancer immunotherapeutic strategy. In syngeneic mice model of melanoma B16-F10 tumor, depletion of Kyn in both plasma and tumor tissue by Kyn-degrading enzymes kynureninase reduced Kyn levels in IDO1, TDO and IDO1/TDO dual positive cancer cells and augmented effector T cells in tumor, without impact on Trp levels. Beside its direct tumoricidal effect in mice bearing CT26 colon carcinoma, kynureninase treatment resulted in accumulation of effector CD8 T cells within the tumor nest, as well as increased level of IFN- γ in the TME. Similarly, single doses of recombinant kynureninase potently reduced Kyn concentrations and increased levels of CD8 T cells in murine tumor models, thus reversing the modulatory effects of IDO1/TDO upregulation in the TME (101). The antitumor activity of recombinant kynureninase was abolished in IDO1 knockout mice and in *Rag*^{-/-} mice depleted for CD8 T cells, indicating its dependency on IDO1 and functional immunity, respectively. In B16-F10 melanoma, CT26 colon cancer and 4T1 breast cancer models, combination of engineered kynureninase with ICI exhibited significant tumor growth inhibition and survival benefit. The administration of a pharmacologically optimized kynureninase had substantial therapeutic effects when combined with approved ICI for the treatment of B16-F10 melanoma, 4T1 breast carcinoma or CT26 colon carcinoma tumors (101). Moreover, the kynureninase-anti-PD-1 combination was more effective than the epacadostat-anti-PD-1 combination in CT26 tumor-bearing mice. Further studies are required to determine the tolerability as well as efficacy of engineered kynureninase as single agent or combined with ICI (**Table 2**).

Despite no ongoing clinical trial is available, a pharmacologically optimized human kynureninase is currently moving toward clinical development for the treatment of cancers where pathway Trp-Kyn-AhR pathway play a significant immunosuppressive role through Kyn production, and those independently of both IDO1 and TDO overexpression. Therefore, this type of pharmacological compound may potentially synergize with ICIs and offer novel opportunities for cancer immunotherapy.

3. Synthetic AhR modulators

AhR expression is increased in aggressive malignancies and constitutively localizes to the nucleus, suggesting that it is chronically activated to facilitate tumor progression (102). It is now well established that ligand-activated AhR hinders an efficient antitumor immunity via stimulation of antigen-presenting DCs, tumor-associated macrophages (TAMs), immunosuppressive Tregs and modulates effector CD8 and CD4 T cell function (103). Beside hampering the formation or depleting the Kyn produced by IDO1/TDO enzymes, inhibition of AhR signaling activation with small-molecule antagonists is an alternative strategy, which seeks to interfere with the downstream immunomodulatory effects regardless of the source of Kyn production. A major challenge to the development of selective AhR modulators reside in its ligand promiscuity (104). Although numerous diverse molecules are known to activate AhR signaling, only few compounds are available as AhR antagonists, aiming to understand the immunological roles of AhR (105–107).

Early mouse and human AhR inhibitors have been shown to block nuclear translocation of AhR and increased production of IFN- γ , TNF- α , and IL-2 in *ex vivo* assays. In the CT26 colon carcinoma syngeneic mouse model, blocking AhR with a highly potent antagonist as monotherapy significantly enhanced T cell activity and decreased M2-like macrophages infiltration *in vitro* and drive antitumor immunity *in vivo*, resulting in reduced tumor growth (97). By using RNA-sequencing of human cancers, a recent study revealed a correlation between the expression of AhR-related genes with markers associated with immunotherapy resistance, such as PD-1, FoxP3 and CD206 (108). Moreover, AhR inhibition was shown to delay progression of IDO1-positive and TDO-positive B16 melanoma mice model, and also improved ICI efficacy when used in combination (108). Altogether, these findings suggest that targeting the Kyn pathway through AHR inhibition could overcome key suppressive mechanisms and sensitize tumors to ICI. Recently, AhR antagonist molecules exhibited single agent anti-tumor activity and increased the efficacy of anti-PD-L1 checkpoint inhibition in different syngeneic mouse tumor models (109). Numerous AhR inhibitors have entered *in vivo* studies. Notably, BAY-218, a selective AhR blocker, enhanced therapeutic efficacy of PD-L1 blockade in the CT26 colon carcinoma model (110,111).

Several companies have disclosed the development of AhR inhibitors in clinic, without biological data in human reported to date. For example, BAY-218 is currently being explored in phase I trial for therapy of patients with advanced cancer. However, one caveat resides in the incompletely understanding functional role of AhR in tumorigenesis and cancer metastasis. Indeed, ligand-activated AhR was shown to reduce metastatic ability and stemness of breast cancer cells (112–114). It remains to be clarified in clinical settings whether AhR agonist or antagonist elicit antitumor activity by modulating immunity or by acting directly on the cancer cells that could eventually synergize with ICI.

IV. Challenges and perspectives

Amount of evidence indicate that cancer cells overexpressing IDO1 and/or TDO can evade immunosurveillance via Trp starvation, and the transcription factor AhR participates in cancer immune escape by binding to the IDO1/TDO product Kyn. Additionally, emerging evidence points out that IDO2 is also upregulated in some tumors and plays a role in the development of cancer (115). Therefore, a strong translational rational still exist for therapeutically targeting the Trp-Kyn-AhR pathway in conjunction with immunotherapy. Despite durable responses have been reported for epacadostat combined with pembrolizumab, efficacy was globally lacking from multiple clinical trials evaluating IDO1 inhibition with anti-PD-1/L1-based ICI. These conflicting results were questioned with the recent description of epacadostat and navoximod as AhR agonists, casting doubt on the mechanism of action of these pharmacological compounds (116). While the implications of this unexpected activity are unclear, it may have had a bearing on the immune-activating effect of IDO1 inhibition and have counteracted ICI synergistic action. Moreover, pharmaceutical hypothesis suggests that intratumoral penetrance of IDO1 inhibitors could be hindered due to diminished blood supply to tumors or elevated oncotic pressure in solid tumors. Last, even if IDO1 inhibitors are able to penetrate tumors, cellular transporters, such as ATP-binding cassette (ABC), could interfere with intracellular penetrance. Much more potent and optimized IDO1 inhibitors have entered human clinical trials in combination with immunotherapeutic agents to overcome these mechanisms of resistance (**Table 2**).

In parallel, alternative mechanisms to achieve intratumoral Kyn reduction are currently being investigated, aiming to limit the immunosuppressive and cancer-promoting effects of IDO1-mediated and/or TDO-mediated Kyn formation. Fostering the degradation of extracellular pool of Kyn by kynureninase is a novel concept for targeting the Trp-Kyn-AhR axis. By rapid removal of Kyn, kynureninase prevents AhR activation and reinstates antitumor immunity. This mechanism should be capable of blocking the tumor-promoting activity of IDO1/TDO by inhibiting the binding of Kyn. A second new concept is AhR antagonists, which have theoretically the potential to inhibit AhR activation by all agonist irrespective of their origin. Kynureninases and AhR antagonists represent a vanguard of new immunometabolic drugs that could safely enhance the efficacy of cancer immunotherapy. In comparison to directly targeting IDO1, further investigations are warranted to evaluate the potential synergistic effect between these novel strategies with ICI.

Owing to the deeper understanding of the Trp-Kyn-AhR axis role in cancer, others innovative approaches are currently being developed to counterbalance IDO1-mediated immunosuppression and synergize with ICI-based immunotherapy. Recently, the identification of spontaneous T-cell reactivity against PD-L1 and IDO1 in the TME and in the peripheral blood of patients with metastatic melanoma, which were capable of eliminating tumor cells and immune regulatory cells in vitro, have raised new therapeutic strategies (117–119). Thus, boosting specific T cells that recognize immune regulatory proteins, such as IDO1 and PD-L1, may directly reinvigorate antitumor immunity (120). In this regard, clinical studies employing an IDO1 peptide-based vaccine have been initiated, either alone or in combination with ICIs (**Table 2**)(121–124). As example, the immunomodulatory IO-102 peptide vaccine containing single IDO1- and PD-L1-derived long peptide sequences has been designed to

engage and activate IDO1 and PD-L1 specific T-cells mediating immune switch. The IO-102 vaccine in combination with nivolumab demonstrated encouraging early efficacy data without dose-limiting toxicity in patients with progressive metastatic melanoma (124). With proof of concept for IDO1 peptides vaccines now established, this strategy provides a valuable resource for gaining further antitumor response of ICI. In addition, a recent preliminary study found that activation of the KP in human malignancies can be suppressed by the cyclin-dependent kinase inhibitor dinaciclib, thus pointing out the potential of targeted therapies to interfere with Trp catabolism (125). At last, the proteolysis targeting chimera (PROTAC) technology, which degrades oncogenic proteins via the ubiquitin-proteasome pathway, has recently emerged to design PROTAC-based IDO1 degraders and thus may hold great promise for cancer immunotherapy (126).

Accumulating evidence points to the distinct Trp catabolic enzyme TDO as another mechanism of immune escape and TDO inhibition has emerged as a parallel immunomodulatory strategy to attack tumor (103,127). However, there are differences in the inflammatory characteristics conferred by TDO despite a common role of these enzymes in Trp metabolism (128). Although enzymological differences may help to explain these different roles, they may also reflect differences in locoregional control of Kyn production or in the availability or efficiency of Kyn effector mechanisms, such as AhR binding and KP catabolic enzymes. A recent preclinical study in TDO-expressing tumors found that the use of an oral TDO inhibitor molecule can modulate Kyn and Trp in plasma and tumor tissue, and demonstrated synergistic antitumor response when combined with anti-CTLA-4 antibody, confirming the benefit of blocking TDO activity to increase the efficacy of immunotherapy (129). Moreover, *TDO* knock out mice increased antitumor activity of anti-PD-1 blockers and suggest that TDO blockade can also favor immunotherapy of TDO-negative tumors, by increasing Trp to overcome IDO1-mediated immunosuppression (129). Nevertheless, despite the current lack of a genetic preclinical proof of concept, there exists a pharmacologic rationale to explore TDO inhibitors along with IDO1/TDO combined inhibitors as next-generation modalities in the field, particularly as a promising strategy for cancer immunotherapy. In this regard, improvement of pharmacological engineering has led to the development of dual IDO1/TDO inhibitors that could indiscriminately deplete intratumoral and systemic Kyn produced by IDO1/TDO. In preclinical cancer models, the IDO1/TDO inhibitor RG70099 demonstrated significant decrease Kyn levels, while reduced tumor volumes was reported in response to the IDO1/TDO inhibitor EPL-1410 when evaluated as single agent (130,131). The IDO1/TDO dual inhibitors CB548 and CMG017 elicited a robust antitumor immune effect and synergistically inhibit tumor progression in combination with ICI (132). Similarly, the dual IDO1/TDO inhibitor SHR9146 in combination with an anti-PD-1 demonstrated promising antitumor activity with acceptable safety in patients with advanced solid tumors. Owing to encouraging preclinical results, novel agents in each of these classes are approaching early phase studies or are already ongoing, thus opening new insights and might provide an effective means of targeting Trp catabolism (**Table 2**).

Cancer cells may collude with the host microbiota to produce AhR agonists from dietary sources. Recently, the gut microbiome has been found to regulate cancer initiation, progression and response to ICI (133,134). In addition to serving as a nutrient enhancer, Trp and its IDO1-catalyzed

endogenous metabolites play crucial roles in the balance between intestinal immune tolerance and gut microbiota maintenance. Recent discoveries have underscored that changes in the microbiota modulate the host immune system by modulating Trp metabolism (135). These profound effects of gut microbiota on Trp-associated immune homeostasis might be linked to tumorigenesis and implicated in several cancers as well as resistance to therapies, such as ICI. Consideration might be given to whether dietary or environmental exposures could be variable in population treated by modulators of Trp-Kyn-AhR axis especially given the canonical role of AhR as a xenobiotic sensor that is responsive to signals from the gut microbiome (11). Therefore, understanding these crosstalks between immune system, tumor progression and gut microbiota is of utmost importance to adapt immunomodulatory drugs, such as ICI and drugs targeting the Trp-Kyn-AhR axis.

Finally, the development of cancer immunotherapy still lacking accurate biomarkers able to predict ICI efficacy. In the evaluation of Trp-Kyn-AhR inhibitors, reduction of extracellular Kyn within TME or downstream transcriptional programs should be emphasized as major pharmacodynamic endpoints. While prior studies demonstrated a correlation between peripheral Kyn/Trp level and response to anti-PD-1, a major concern pertaining to the clinical evaluation of selective IDO1 inhibitor epacadostat was the absence of intratumoral Kyn biomarker analysis (136,137). However, it has to be proven whether serum Kyn is a surrogate marker of intratumoral Kyn. In future clinical trials, it will be critical to stratify patients to modulators of Trp catabolism based on tumor enzyme expression, Trp catabolite levels in the TME or systemic circulation, and the activation of downstream signaling pathways, aiming to identify those who are more likely to respond.

V. Conclusion

Cancer immunotherapy has achieved a great accomplishment with the approval of CTLA-4 and PD-1/L1 inhibitors in the clinical care of a growing list of malignancies. However, the majority of patients do not derive benefit, underscoring the need to develop novel strategies to circumvent primary or secondary resistances. Cancer cells utilize a variety of biological mechanisms to generate an immune permissive growth environment and evade the host antitumor immune response. Upregulation of the Trp-Kyn-AhR pathway has been identified as one of such mechanism. The immunosuppressive effect of this pathway is believed to be mediated by IDO1/TDO-mediated Trp depletion, T cell-associated adaptative immunity dysfunction mediated by Kyn cytotoxicity and activation of immune-tolerogenic AhR. Therefore, combining Trp catabolism-targeting drugs with ICI have elicited high hopes of a positive impact in the field of immunotherapy.

To date, the evaluation of IDO1 inhibitors alone or combined with ICI in clinical trials have provided disillusioning results, requiring more comprehensive understandings on the role of Trp-Kyn-AhR pathway in cancer development and immunology. This area remains controversial but highlights the need for effective and physiologically relevant preclinical studies to best identify the conditions in which IDO1 inhibitors and modulation of Trp metabolism in the TME may add therapeutic value. Combinatorial and innovative strategies targeting the Trp-Kyn-AhR pathway may afford a special opportunity to widen the therapeutic window of many regimens, especially in the era of immunotherapy.

List of abbreviations

ABC: ATP-binding cassette	MDSC: myeloid-derived suppressor cell
AhR: aryl hydrocarbon receptor	mOS: median OS
CRC: colorectal cancer	mPFS: median PFS
CTL: cytotoxic CD8 T cell	mTOR: mammalian target of rapamycin
CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte antigen-4	mTORC1: mTOR complex
D-1MT: 1-methyl-D-tryptophan	NK: natural killer
DC: dendritic cell	NSCLC: non-small cell lung cancer
eIF2 α : eukaryotic initiation factor 2 α kinase	OS: overall survival
FoxP3: forkhead box p3	PD1: programmed death 1
GCN2: general control over nonderepressible 2	pDC: plasmacytoid dendritic cell
HNSCC: head and neck squamous cell carcinoma	PD-L1: programmed death ligand 1
HR: hazard ratio	PFS: progression-free survival
ICI: immune checkpoint inhibitor	PGE ₂ : prostaglandin E2
IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase 1	TAM: tumor-associated macrophage
IDO2: indoleamine 2,3-dioxygenase 2	TCCD: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin
IFN: interferon	TCGA: The Cancer Genome Atlas
IFN- γ : interferon γ	tDC: tolerogenic dendritic cell
IFN- β : interferon β	TDO: tryptophan 2,3-dioxygenase
IL-6: interleukin 6	Th17: type 17 helper cell
ILC: innate lymphoid cell	Th22: type 22 helper cell
IRF: interferon regulatory factor	TiPARP: TCCD-inducible poly(ADP-ribose) polymerase
ITE: 2-(1'H-indole-3'-carbonyl)-thiazole-4-carboxylic acid methyl ester	TMB: tumor mutational burden
FICZ: 6-formylindolo[3,2-b]carbazole	TME: tumor microenvironment
Kyn: kynurenine	TNF- α : tumor necrosis factor α
KP: kynurenine pathway	Treg: regulatory T cell
	Trp: tryptophan

References

1. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* (2011) 331:1565–1570.
2. Robert C. A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Nat Commun* (2020) 11:3801. doi:10.1038/s41467-020-17670-y
3. Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell* (2017) 168:707–723. doi:10.1016/j.cell.2017.01.017
4. Gajewski TF, Meng Y, Blank C, Brown I, Kacha A, Kline J, Harlin H. Immune resistance orchestrated by the tumor microenvironment. *Immunity* (2006) 213:131–145. doi:10.1111/j.1600-065X.2006.00442.x
5. Spranger S. Mechanisms of tumor escape in the context of the T-cell-inflamed and the non-T-cell-inflamed tumor microenvironment. *Int Immunol* (2016) 28:383–391. doi:10.1093/intimm/dxw014
6. Lanitis E, Dangaj D, Irving M, Coukos G. Mechanisms regulating T-cell infiltration and activity in solid tumors. *Ann Oncol* (2017) 28:xii18–xii32. doi:10.1093/annonc/mdx238
7. Munn DH, Zhou M, Attwood JT, Bondarev I, Conway SJ, Marshall B, Brown C, Mellor AL. Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science* (1998) 281:1191–1193. doi:10.1126/science.281.5380.1191
8. Munn DH, Sharma MD, Hou D, Baban B, Lee JR, Antonia SJ, Messina JL, Chandler P, Koni PA, Mellor AL. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by plasmacytoid dendritic cells in tumor-draining lymph nodes. *J Clin Invest* (2004) 114:280–290. doi:10.1172/JCI21583
9. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses. *Trends Immunol* (2013) 34:137–143. doi:10.1016/j.it.2012.10.001
10. Brandacher G, Perathoner A, Ladurner R, Schneeberger S, Obrist P, Winkler C, Werner ER, Werner-Felmayer G, Weiss HG, Göbel G, et al. Prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in colorectal cancer: effect on tumor-infiltrating T cells. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* (2006) 12:1144–1151. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-1966
11. Gutiérrez-Vázquez C, Quintana FJ. Regulation of the Immune Response by the Aryl Hydrocarbon Receptor. *Immunity* (2018) 48:19–33. doi:10.1016/j.immuni.2017.12.012
12. Prendergast GC, Smith C, Thomas S, Mandik-Nayak L, Laury-Kleintop L, Metz R, Muller AJ. Indoleamine 2,3-dioxygenase pathways of pathogenic inflammation and immune escape in cancer. *Cancer Immunol Immunother CII* (2014) 63:721–735. doi:10.1007/s00262-014-1549-4
13. Munn DH, Mellor AL. IDO in the Tumor Microenvironment: Inflammation, Counter-Regulation, and Tolerance. *Trends Immunol* (2016) 37:193–207. doi:10.1016/j.it.2016.01.002
14. Spranger S, Koblisch HK, Horton B, Scherle PA, Newton R, Gajewski TF. Mechanism of tumor rejection with doublets of CTLA-4, PD-1/PD-L1, or IDO blockade involves restored IL-2 production and proliferation of CD8(+) T cells directly within the tumor microenvironment. *J Immunother Cancer* (2014) 2:3. doi:10.1186/2051-1426-2-3
15. Badawy AA-B. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *Int J Tryptophan Res IJTR* (2017) 10:1178646917691938. doi:10.1177/1178646917691938
16. Stone TW, Stoy N, Darlington LG. An expanding range of targets for kynurenine metabolites of tryptophan. *Trends Pharmacol Sci* (2013) 34:136–143. doi:10.1016/j.tips.2012.09.006
17. Fatokun AA, Hunt NH, Ball HJ. Indoleamine 2,3-dioxygenase 2 (IDO2) and the kynurenine pathway: characteristics and potential roles in health and disease. *Amino Acids* (2013) 45:1319–1329. doi:10.1007/s00726-013-1602-1
18. Platten M, von Knebel Doeberitz N, Oezen I, Wick W, Ochs K. Cancer Immunotherapy by Targeting IDO1/TDO and Their Downstream Effectors. *Front Immunol* (2014) 5:673. doi:10.3389/fimmu.2014.00673
19. Le Naour J, Galluzzi L, Zitvogel L, Kroemer G, Vacchelli E. Trial watch: IDO inhibitors in cancer therapy. *Oncol Immunology* (2020) 9:1777625. doi:10.1080/2162402X.2020.1777625
20. Konan KV, Taylor MW. Importance of the Two Interferon-stimulated Response Element (ISRE) Sequences in the Regulation of the Human Indoleamine 2,3-Dioxygenase Gene *. *J Biol Chem* (1996) 271:19140–19145. doi:10.1074/jbc.271.32.19140
21. Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, Vacca C, Belladonna ML, Bianchi R, Servillo G, Brunacci C, Calvitti M, Biccioni S, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nat Immunol* (2011) 12:870–878. doi:10.1038/ni.2077
22. Litzénberger UM, Opitz CA, Sahn F, Rauschenbach KJ, Trump S, Winter M, Ott M, Ochs K, Lutz C, Liu X, et al. Constitutive IDO expression in human cancer is sustained by an autocrine signaling loop involving IL-6, STAT3 and the AHR. *Oncotarget* (2014) 5:1038–1051. doi:10.18632/oncotarget.1637
23. Ochs K, Ott M, Rauschenbach KJ, Deumelandt K, Sahn F, Opitz CA, Deimling A von, Wick W, Platten M. Tryptophan-2,3-dioxygenase is regulated by prostaglandin E2 in malignant glioma via a positive signaling loop involving prostaglandin E receptor-4. *J Neurochem* (2016) 136:1142–1154. doi:10.1111/jnc.13503
24. Muller AJ, DuHadaway JB, Donover PS, Sutanto-Ward E, Prendergast GC. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase,

- an immunoregulatory target of the cancer suppression gene Bin1, potentiates cancer chemotherapy. *Nat Med* (2005) 11:312–319. doi:10.1038/nm1196
25. Liu X, Shin N, Koblisch HK, Yang G, Wang Q, Wang K, Leffet L, Hansbury MJ, Thomas B, Rupar M, et al. Selective inhibition of IDO1 effectively regulates mediators of antitumor immunity. *Blood* (2010) 115:3520–3530. doi:10.1182/blood-2009-09-246124
 26. Opitz CA, Litzemberger UM, Sahn F, Ott M, Tritschler I, Trump S, Schumacher T, Jestaedt L, Schrenk D, Weller M, et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature* (2011) 478:197–203. doi:10.1038/nature10491
 27. Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, Colau D, Dolušić E, Frédéric R, Plaen ED, Uyttenhove C, Wouters J, Masereel B, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci* (2012) 109:2497–2502. doi:10.1073/pnas.1113873109
 28. Vigneron N, van Baren N, Van den Eynde BJ. Expression profile of the human IDO1 protein, a cancer drug target involved in tumoral immune resistance. *Oncol Immunology* (2015) 4:e1003012. doi:10.1080/2162402X.2014.1003012
 29. Théate I, van Baren N, Pilotte L, Moulin P, Larrieu P, Renaud J-C, Hervé C, Gutierrez-Roelens I, Marbaix E, Sempoux C, et al. Extensive profiling of the expression of the indoleamine 2,3-dioxygenase 1 protein in normal and tumoral human tissues. *Cancer Immunol Res* (2015) 3:161–172. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0137
 30. Brochez L, Chevolet I, Kruse V. The rationale of indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition for cancer therapy. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990* (2017) 76:167–182. doi:10.1016/j.ejca.2017.01.011
 31. Munn DH, Shafiqzadeh E, Attwood JT, Bondarev I, Pashine A, Mellor AL. Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *J Exp Med* (1999) 189:1363–1372. doi:10.1084/jem.189.9.1363
 32. Lee GK, Park HJ, Macleod M, Chandler P, Munn DH, Mellor AL. Tryptophan deprivation sensitizes activated T cells to apoptosis prior to cell division. *Immunology* (2002) 107:452–460. doi:10.1046/j.1365-2567.2002.01526.x
 33. Fallarino F, Grohmann U, Vacca C, Bianchi R, Orabona C, Spreca A, Fioretti MC, Puccetti P. T cell apoptosis by tryptophan catabolism. *Cell Death Differ* (2002) 9:1069–1077. doi:10.1038/sj.cdd.4401073
 34. Munn DH, Sharma MD, Baban B, Harding HP, Zhang Y, Ron D, Mellor AL. GCN2 Kinase in T Cells Mediates Proliferative Arrest and Anergy Induction in Response to Indoleamine 2,3-Dioxygenase. *Immunity* (2005) 22:633–642. doi:10.1016/j.immuni.2005.03.013
 35. Eleftheriadis T, Pissas G, Antoniadis G, Liakopoulos V, Stefanidis I. Indoleamine 2,3-dioxygenase depletes tryptophan, activates general control non-derepressible 2 kinase and down-regulates key enzymes involved in fatty acid synthesis in primary human CD4+ T cells. *Immunology* (2015) 146:292–300. doi:10.1111/imm.12502
 36. Sonner JK, Deumelandt K, Ott M, Thomé CM, Rauschenbach KJ, Schulz S, Munteanu B, Mohapatra S, Adam I, Hofer A-C, et al. The stress kinase GCN2 does not mediate suppression of antitumor T cell responses by tryptophan catabolism in experimental melanomas. *Oncol Immunology* (2016) 5:e1240858. doi:10.1080/2162402X.2016.1240858
 37. Castilho BA, Shanmugam R, Silva RC, Ramesh R, Himme BM, Sattlegger E. Keeping the eIF2 alpha kinase Gcn2 in check. *Biochim Biophys Acta* (2014) 1843:1948–1968. doi:10.1016/j.bbamcr.2014.04.006
 38. DiNatale BC, Murray IA, Schroeder JC, Flaveny CA, Lahoti TS, Laurenzana EM, Omiecinski CJ, Perdew GH. Kynurenic Acid Is a Potent Endogenous Aryl Hydrocarbon Receptor Ligand that Synergistically Induces Interleukin-6 in the Presence of Inflammatory Signaling. *Toxicol Sci* (2010) 115:89–97. doi:10.1093/toxsci/kfq024
 39. Nguyen NT, Kimura A, Nakahama T, Chinen I, Masuda K, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T. Aryl hydrocarbon receptor negatively regulates dendritic cell immunogenicity via a kynurenine-dependent mechanism. *Proc Natl Acad Sci* (2010) 107:19961–19966. doi:10.1073/pnas.1014465107
 40. Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Burlingham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *J Immunol Baltim Md 1950* (2010) 185:3190–3198. doi:10.4049/jimmunol.0903670
 41. Rothhammer V, Quintana FJ. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nat Rev Immunol* (2019) 19:184–197. doi:10.1038/s41577-019-0125-8
 42. Liu Y, Liang X, Dong W, Fang Y, Lv J, Zhang T, Fiskesund R, Xie J, Liu J, Yin X, et al. Tumor-Repopulating Cells Induce PD-1 Expression in CD8+ T Cells by Transferring Kynurenine and AhR Activation. *Cancer Cell* (2018) 33:480–494.e7. doi:10.1016/j.ccell.2018.02.005
 43. Greene LI, Bruno TC, Christenson JL, D'Alessandro A, Culp-Hill R, Torkko K, Borges VF, Slansky JE, Richer JK. A Role for Tryptophan-2,3-dioxygenase in CD8 T-cell Suppression and Evidence of Tryptophan Catabolism in Breast Cancer Patient Plasma. *Mol Cancer Res MCR* (2019) 17:131–139. doi:10.1158/1541-7786.MCR-18-0362
 44. Quintana FJ, Murugaiyan G, Farez MF, Mitsdoerffer M, Tukpah A-M, Burns EJ, Weiner HL. An endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand acts on dendritic cells and T cells to suppress experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci* (2010) 107:20768–20773. doi:10.1073/pnas.1009201107
 45. Kimura A, Naka T, Nakahama T, Chinen I, Masuda K, Nohara K, Fujii-Kuriyama Y, Kishimoto T. Aryl hydrocarbon receptor in combination with Stat1 regulates LPS-induced inflammatory responses. *J Exp Med* (2009) 206:2027–2035. doi:10.1084/jem.20090560

46. Wagage S, John B, Krock BL, Hall AO, Randall LM, Karp CL, Simon MC, Hunter CA. The Aryl Hydrocarbon Receptor Promotes IL-10 Production by NK Cells. *J Immunol* (2014) 192:1661–1670. doi:10.4049/jimmunol.1300497
47. Wang C, Ye Z, Kijlstra A, Zhou Y, Yang P. Activation of the aryl hydrocarbon receptor affects activation and function of human monocyte-derived dendritic cells. *Clin Exp Immunol* (2014) 177:521–530. doi:10.1111/cei.12352
48. Apetoh L, Quintana FJ, Pot C, Joller N, Xiao S, Kumar D, Burns EJ, Sherr DH, Weiner HL, Kuchroo VK. The aryl hydrocarbon receptor interacts with c-Maf to promote the differentiation of type 1 regulatory T cells induced by IL-27. *Nat Immunol* (2010) 11:854–861. doi:10.1038/ni.1912
49. Tanaka A, Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Cell Res* (2017) 27:109–118. doi:10.1038/cr.2016.151
50. Kumar V, Patel S, Tcyganov E, Gabrilovich DI. The Nature of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment. *Trends Immunol* (2016) 37:208–220. doi:10.1016/j.it.2016.01.004
51. Yang L, Zhang Y. Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application. *J Hematol Oncol Hematol Oncol* (2017) 10:58. doi:10.1186/s13045-017-0430-2
52. Manlapat AK, Kahler DJ, Chandler PR, Munn DH, Mellor AL. Cell-autonomous control of interferon type I expression by indoleamine 2,3-dioxygenase in regulatory CD19+ dendritic cells. *Eur J Immunol* (2007) 37:1064–1071. doi:10.1002/eji.200636690
53. Yamada T, Horimoto H, Kameyama T, Hayakawa S, Yamato H, Dazai M, Takada A, Kida H, Bott D, Zhou AC, et al. Constitutive aryl hydrocarbon receptor signaling constrains type I interferon-mediated antiviral innate defense. *Nat Immunol* (2016) 17:687–694. doi:10.1038/ni.3422
54. Quintana FJ, Basso AS, Iglesias AH, Korn T, Farez MF, Bettelli E, Caccamo M, Oukka M, Weiner HL. Control of T reg and T H 17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. *Nature* (2008) 453:65–71. doi:10.1038/nature06880
55. Yeste A, Nadeau M, Burns EJ, Weiner HL, Quintana FJ. Nanoparticle-mediated codelivery of myelin antigen and a tolerogenic small molecule suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci* (2012) 109:11270–11275. doi:10.1073/pnas.1120611109
56. Shin JH, Zhang L, Murillo-Sauca O, Kim J, Kohrt HEK, Bui JD, Sunwoo JB. Modulation of natural killer cell antitumor activity by the aryl hydrocarbon receptor. *Proc Natl Acad Sci* (2013) 110:12391–12396. doi:10.1073/pnas.1302856110
57. Li J, Doty A, Glover SC. Aryl hydrocarbon receptor activation and IL-2 have synergistic effects that enhance human natural killer cell cytotoxicity. *J Immunol* (2016) 196:129.11-129.11.
58. Goudot C, Coillard A, Villani A-C, Gueguen P, Cros A, Sarkizova S, Tang-Huau T-L, Bohec M, Baulande S, Hacohen N, et al. Aryl Hydrocarbon Receptor Controls Monocyte Differentiation into Dendritic Cells versus Macrophages. *Immunity* (2017) 47:582-596.e6. doi:10.1016/j.immuni.2017.08.016
59. Chevolet I, Speeckaert R, Schreuer M, Neyns B, Krysko O, Bachert C, Hennart B, Allorge D, Geel N van, Gele MV, et al. Characterization of the in vivo immune network of IDO, tryptophan metabolism, PD-L1, and CTLA-4 in circulating immune cells in melanoma. *Oncol Immunology* (2015) 4:e982382. doi:10.4161/2162402X.2014.982382
60. Spranger S, Spaapen RM, Zha Y, Williams J, Meng Y, Ha TT, Gajewski TF. Up-Regulation of PD-L1, IDO, and Tregs in the Melanoma Tumor Microenvironment Is Driven by CD8+ T Cells. *Sci Transl Med* (2013) 5:200ra116-200ra116. doi:10.1126/scitranslmed.3006504
61. Takenaka MC, Gabriely G, Rothhammer V, Mascanfroni ID, Wheeler MA, Chao C-C, Gutiérrez-Vázquez C, Kenison J, Tjon EC, Barroso A, et al. Control of tumor-associated macrophages and T cells in glioblastoma via AHR and CD39. *Nat Neurosci* (2019) 22:729–740. doi:10.1038/s41593-019-0370-y
62. Labadie BW, Bao R, Luke JJ. Reimagining IDO Pathway Inhibition in Cancer Immunotherapy via Downstream Focus on the Tryptophan–Kynurenine–Aryl Hydrocarbon Axis. *Clin Cancer Res* (2019) 25:1462–1471. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2882
63. Holmgaard RB, Zamarin D, Munn DH, Wolchok JD, Allison JP. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *J Exp Med* (2013) 210:1389–1402. doi:10.1084/jem.20130066
64. Wainwright DA, Chang AL, Dey M, Balyasnikova IV, Kim CK, Tobias A, Cheng Y, Kim JW, Qiao J, Zhang L, et al. Durable therapeutic efficacy utilizing combinatorial blockade against IDO, CTLA-4, and PD-L1 in mice with brain tumors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* (2014) 20:5290–5301. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-0514
65. Smith C, Chang MY, Parker KH, Beury DW, DuHadaway JB, Flick HE, Boulden J, Sutanto-Ward E, Soler AP, Lairy-Kleintop LD, et al. IDO is a nodal pathogenic driver of lung cancer and metastasis development. *Cancer Discov* (2012) 2:722–735. doi:10.1158/2159-8290.CD-12-0014
66. Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, Orabona C, Vacca C, Bianchi R, Belladonna ML, Fioretti MC, Alegre M-L, Puccetti P. Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol* (2003) 4:1206–1212. doi:10.1038/ni1003
67. Rodrigues CP, Ferreira ACF, Pinho MP, de Moraes CJ, Bergami-Santos PC, Barbuto JAM. Tolerogenic IDO(+) Dendritic Cells Are Induced by PD-1-Expressing Mast Cells. *Front Immunol* (2016) 7:9. doi:10.3389/fimmu.2016.00009
68. Sharma MD, Shinde R, McGaha TL, Huang L, Holmgaard RB, Wolchok JD, Mautino MR, Celis E, Sharpe AH, Francisco LM, et al. The PTEN pathway in Tregs is a critical driver of the suppressive tumor microenvironment. *Sci Adv* (2015) 1:e1500845. doi:10.1126/sciadv.1500845

69. Uyttenhove C, Pilotte L, Théate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, Boon T, Van den Eynde BJ. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med* (2003) 9:1269–1274. doi:10.1038/nm934
70. Godin-Ethier J, Hanafi L-A, Piccirillo CA, Lapointe R. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expression in Human Cancers: Clinical and Immunologic Perspectives. *Clin Cancer Res* (2011) 17:6985–6991. doi:10.1158/1078-0432.CCR-11-1331
71. Yue EW, Sparks R, Polam P, Modi D, Douty B, Wayland B, Glass B, Takvorian A, Glenn J, Zhu W, et al. INCB24360 (Epacadostat), a Highly Potent and Selective Indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO1) Inhibitor for Immuno-oncology. *ACS Med Chem Lett* (2017) 8:486–491. doi:10.1021/acsmchemlett.6b00391
72. Jochems C, Fantini M, Fernando RI, Kwilas AR, Donahue RN, Lepone LM, Grenga I, Kim Y-S, Brechbiel MW, Gulley JL, et al. The IDO1 selective inhibitor epacadostat enhances dendritic cell immunogenicity and lytic ability of tumor antigen-specific T cells. *Oncotarget* (2016) 7:37762–37772. doi:10.18632/oncotarget.9326
73. Koblisch HK, Hansbury MJ, Bowman KJ, Yang G, Neilan CL, Haley PJ, Burn TC, Waeltz P, Sparks RB, Yue EW, et al. Hydroxyamidine inhibitors of indoleamine-2,3-dioxygenase potentially suppress systemic tryptophan catabolism and the growth of IDO-expressing tumors. *Mol Cancer Ther* (2010) 9:489–498. doi:10.1158/1535-7163.MCT-09-0628
74. Reardon DA, Gokhale PC, Klein SR, Jones KL, Kirschmeier PT, Speranza M, Koblisch H, Scherle P, Leopold L, Newton R, et al. Abstract 572: Inhibition of IDO1 with epacadostat enhances anti-tumor efficacy of PD-1 blockade in a syngeneic glioblastoma (GBM) model. *Cancer Res* (2017) 77:572–572. doi:10.1158/1538-7445.AM2017-572
75. Beatty GL, O'Dwyer PJ, Clark J, Shi JG, Bowman KJ, Scherle PA, Newton RC, Schaub R, Maleski J, Leopold L, et al. First-in-Human Phase I Study of the Oral Inhibitor of Indoleamine 2,3-Dioxygenase-1 Epacadostat (INCB024360) in Patients with Advanced Solid Malignancies. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* (2017) 23:3269–3276. doi:10.1158/1078-0432.CCR-16-2272
76. Komrokji RS, Wei S, Mailloux AW, Zhang L, Padron E, Lancet JE, Tinsley S, Nardelli LA, Benoit C, Pinilla-Ibarz J, et al. A Phase II Study to Determine the Safety and Efficacy of the Oral Inhibitor of Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO) Enzyme INCB024360 in Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Blood* (2014) 124:4653–4653. doi:10.1182/blood.V124.21.4653.4653
77. Kristeleit R, Davidenko I, Shirinkin V, El-Khouly F, Bondarenko I, Goodheart MJ, Gorbunova V, Penning CA, Shi JG, Liu X, et al. A randomised, open-label, phase 2 study of the IDO1 inhibitor epacadostat (INCB024360) versus tamoxifen as therapy for biochemically recurrent (CA-125 relapse)-only epithelial ovarian cancer, primary peritoneal carcinoma, or fallopian tube cancer. *Gynecol Oncol* (2017) 146:484–490. doi:10.1016/j.ygyno.2017.07.005
78. Long GV, Dummer R, Hamid O, Gajewski TF, Caglevic C, Dalle S, Arance A, Carlino MS, Grob J-J, Kim TM, et al. Epacadostat plus pembrolizumab versus placebo plus pembrolizumab in patients with unresectable or metastatic melanoma (ECHO-301/KEYNOTE-252): a phase 3, randomised, double-blind study. *Lancet Oncol* (2019) 20:1083–1097. doi:10.1016/S1470-2045(19)30274-8
79. Smith M, Newton R, Owens S, Gong X, Tian C, Maleski J, Leopold L. 28 Retrospective pooled analysis of epacadostat clinical studies identifies doses required for maximal pharmacodynamic effect in anti-PD-1 combination studies. *J Immunother Cancer* (2020) 8: doi:10.1136/jitc-2020-SITC2020.0028
80. Mautino MR, Jaipuri FA, Waldo J, Kumar S, Adams J, Allen CV, Marcinowicz-Flick A, Munn D, Vahanian N, Link CJ. Abstract 491: NLG919, a novel indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)-pathway inhibitor drug candidate for cancer therapy. *Cancer Res* (2013) 73:491–491. doi:10.1158/1538-7445.AM2013-491
81. Mautino MR, Link CJ, Vahanian NN, Adams JT, Allen CV, Sharma MD, Johnson TS, Munn D. Abstract 5023: Synergistic antitumor effects of combinatorial immune checkpoint inhibition with anti-PD-1/PD-L antibodies and the IDO pathway inhibitors NLG-919 and indoximod in the context of active immunotherapy. *Cancer Res* (2014) 74:5023–5023. doi:10.1158/1538-7445.AM2014-5023
82. Spahn J, Peng J, Lorenzana E, Kan D, Hunsaker T, Segal E, Mautino M, Brincks E, Pirzkal A, Kelley S, et al. Improved anti-tumor immunity and efficacy upon combination of the IDO1 inhibitor GDC-0919 with anti-PD-1 blockade versus anti-PD-1 alone in preclinical tumor models. *J Immunother Cancer* (2015) 3:P303. doi:10.1186/2051-1426-3-S2-P303
83. Jung KH, LoRusso P, Burris H, Gordon M, Bang Y-J, Hellmann MD, Cervantes A, de Olza MO, Marabelle A, Hodi FS, et al. Phase I Study of the Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1 (IDO1) Inhibitor Navoximod (GDC-0919) Administered with PD-L1 Inhibitor (Atezolizumab) in Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res* (2019) 25:3220–3228. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2740
84. Hunt JT, Balog A, Huang C, Lin T-A, Lin T-A, Maley D, Gullo-Brown J, Swanson J, Brown J. Abstract 4964: Structure, in vitro biology and in vivo pharmacodynamic characterization of a novel clinical IDO1 inhibitor. *Cancer Res* (2017) 77:4964–4964. doi:10.1158/1538-7445.AM2017-4964
85. Siu LL, Gelmon K, Chu Q, Pachynski R, Alese O, Basciano P, Walker J, Mitra P, Zhu L, Phillips P, et al. Abstract CT116: BMS-986205, an optimized indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitor, is well tolerated with potent pharmacodynamic (PD) activity, alone and in combination with nivolumab (nivo) in advanced cancers in a phase 1/2a trial. *Cancer Res* (2017) 77:CT116–CT116. doi:10.1158/1538-7445.AM2017-CT116
86. Reardon DA, Desjardins A, Rixe O, Cloughesy T, Alekar S, Williams JH, Li R, Taylor CT, Lassman AB. A phase 1 study of PF-06840003, an oral indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitor in patients with recurrent malignant glioma. *Invest New Drugs* (2020) 38:1784–1795. doi:10.1007/s10637-020-00950-1
87. Tumang J, Gomes B, Wythes M, Crosignani S, Bingham P, Bottemanne P, Cannelle H, Cauwenberghs S, Chaplin J, Dalvie D, et al. Abstract 4863: PF-06840003: a highly selective IDO-1 inhibitor that shows good in vivo efficacy in combination with immune checkpoint inhibitors. *Cancer Res* (2016) 76:4863–4863. doi:10.1158/1538-7445.AM2016-4863

88. Hou D-Y, Muller AJ, Sharma MD, DuHadaway J, Banerjee T, Johnson M, Mellor AL, Prendergast GC, Munn DH. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells by stereoisomers of 1-methyl-tryptophan correlates with antitumor responses. *Cancer Res* (2007) 67:792–801. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-2925
89. Metz R, Rust S, DuHadaway JB, Mautino MR, Munn DH, Vahanian NN, Link CJ, Prendergast GC. IDO inhibits a tryptophan sufficiency signal that stimulates mTOR: A novel IDO effector pathway targeted by D-1-methyl-tryptophan. *Oncol Immunology* (2012) 1:1460–1468. doi:10.4161/onci.21716
90. Brincks EL, Adams J, Wang L, Turner B, Marciniowicz A, Ke J, Essmann M, Mautino LM, Allen CV, Kumar S, et al. Indoximod opposes the immunosuppressive effects mediated by IDO and TDO via modulation of AhR function and activation of mTORC1. *Oncotarget* (2020) 11:2438–2461. doi:10.18632/oncotarget.27646
91. Fox E, Oliver T, Rowe M, Thomas S, Zakharia Y, Gilman PB, Muller AJ, Prendergast GC. Indoximod: An Immunometabolic Adjuvant That Empowers T Cell Activity in Cancer. *Front Oncol* (2018) 8:370. doi:10.3389/fonc.2018.00370
92. Indoximod Combo Triggers Responses in Melanoma. *Cancer Discov* (2017) 7:542–543. doi:10.1158/2159-8290.CD-NB2017-056
93. Zakharia Y, McWilliams RR, Rixe O, Drabick J, Shaheen MF, Grossmann KF, Kolhe R, Pacholczyk R, Sadek R, Tennant LL, et al. Phase II trial of the IDO pathway inhibitor indoximod plus pembrolizumab for the treatment of patients with advanced melanoma. *J Immunother Cancer* (2021) 9:e002057. doi:10.1136/jitc-2020-002057
94. Kumar S, Jaipuri FA, Waldo JP, Potturi H, Marciniowicz A, Adams J, Van Allen C, Zhuang H, Vahanian N, Link C, et al. Discovery of indoximod prodrugs and characterization of clinical candidate NLG802. *Eur J Med Chem* (2020) 198:112373. doi:10.1016/j.ejmech.2020.112373
95. Kotecki N, Vuagnat P, O'Neil BH, Jalal S, Rottey S, Prenen H, Benhadji KA, Xia M, Szpurka AM, Saha A, et al. A Phase I Study of an IDO-1 Inhibitor (LY3381916) as Monotherapy and in Combination With an Anti-PD-L1 Antibody (LY3300054) in Patients With Advanced Cancer. *J Immunother Hagerstown Md 1997* (2021) doi:10.1097/CJI.0000000000000368
96. Sherr D, Kenison-White J, Wang Z. Abstract LB-128: The aryl hydrocarbon receptor as driver of cancer immunity. *Cancer Res* (2018) 78:LB-LB-128. doi:10.1158/1538-7445.AM2018-LB-128
97. Joseph J, Gonzalez-Lopez M, Galang C, Garcia C, Lemar H, Lu J, Vaidya K, Fischer M, Frey C, Alam M, et al. Abstract 4719: Small-molecule antagonists of the Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) promote activation of human PBMCs in vitro and demonstrate significant impact on tumor growth and immune modulation in vivo. *Cancer Res* (2018) 78:4719–4719. doi:10.1158/1538-7445.AM2018-4719
98. Zhang M, Stone E, Triplett TA, Triplett K, Lamb C, Karamitros CS, Blazek J, Georgiou G, Manfredi MG. Abstract 5570: A novel approach to targeting the IDO/TDO pathway through degradation of the immunosuppressive metabolite kynurenine. *Cancer Res* (2017) 77:5570–5570. doi:10.1158/1538-7445.AM2017-5570
99. Triplett TA, Triplett K, Stone E, Zhang M, Manfredi M, Lamb C, Tanno Y, Ehrlich L, Georgiou G. Abstract 5571: Immune-checkpoint inhibition via enzyme-mediated degradation of kynurenine. *Cancer Res* (2017) 77:5571–5571. doi:10.1158/1538-7445.AM2017-5571
100. Stone E, Marshall N, Donkor M, Triplett K, Blazek J, Triplett T, Ehrlich L, Georgiou G. Abstract LB-226: Depletion of kynurenine using an engineered therapeutic enzyme potently inhibits cancer immune checkpoints both as a monotherapy and in combination with anti-PD-1. *Cancer Res* (2015) 75:LB-LB-226. doi:10.1158/1538-7445.AM2015-LB-226
101. Triplett TA, Garrison KC, Marshall N, Donkor M, Blazek J, Lamb C, Qerqez A, Dekker JD, Tanno Y, Lu W-C, et al. Reversal of indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated cancer immune suppression by systemic kynurenine depletion with a therapeutic enzyme. *Nat Biotechnol* (2018) 36:758–764. doi:10.1038/nbt.4180
102. Murray IA, Patterson AD, Perdew GH. Aryl hydrocarbon receptor ligands in cancer: friend and foe. *Nat Rev Cancer* (2014) 14:801–814. doi:10.1038/nrc3846
103. Platten M, Wick W, Van den Eynde BJ. Tryptophan Catabolism in Cancer: Beyond IDO and Tryptophan Depletion. *Cancer Res* (2012) 72:5435–5440. doi:10.1158/0008-5472.CAN-12-0569
104. Soshilov AA, Denison MS. Ligand Promiscuity of Aryl Hydrocarbon Receptor Agonists and Antagonists Revealed by Site-Directed Mutagenesis. *Mol Cell Biol* (2014) 34:1707–1719. doi:10.1128/MCB.01183-13
105. Nguyen LP, Bradfield CA. The Search for Endogenous Activators of the Aryl Hydrocarbon Receptor. *Chem Res Toxicol* (2008) 21:102–116. doi:10.1021/tx7001965
106. Tigges J, Haarmann-Stemmann T, Vogel CFA, Grindel A, Hübenthal U, Brenden H, Grether-Beck S, Vielhaber G, Johncock W, Krutmann J, et al. The New Aryl Hydrocarbon Receptor Antagonist E/Z-2-Benzylindene-5,6-Dimethoxy-3,3-Dimethylindan-1-One Protects against UVB-Induced Signal Transduction. *J Invest Dermatol* (2014) 134:556–559. doi:10.1038/jid.2013.362
107. Parks AJ, Pollastri MP, Hahn ME, Stanford EA, Novikov O, Franks DG, Haigh SE, Narasimhan S, Ashton TD, Hopper TG, et al. In silico identification of an aryl hydrocarbon receptor antagonist with biological activity in vitro and in vivo. *Mol Pharmacol* (2014) 86:593–608. doi:10.1124/mol.114.093369
108. Campesato LF, Budhu S, Tchaicha J, Jaiswal A, Gigoux M, Pourpe S, Liu C, Zamarin D, Manfredi MG, McGovern K, et al. Blockade of IDO/TDO downstream effectors restricts cancer immune suppression. *J Immunol* (2019) 202:137.3-137.3.
109. Pinto S, Steeneck C, Albers M, Anderhub S, Birkel M, Buselic-Wölfel L, Eisenhardt G, Kremoser C, Hoffmann T,

- Deuschle U. Abstract 1210: Targeting the IDO1-Kynurenine-AhR pathway for cancer immunotherapy. *Cancer Res* (2019) 79:1210–1210. doi:10.1158/1538-7445.AM2019-1210
110. Gutcher I, Kober C, Roese L, Roewe J, Schmees N, Prinz F, Gorjanacz M, Roehn U, Bader B, Irlbacher H, et al. Abstract 1288: Blocking tumor-associated immune suppression with BAY-218, a novel, selective aryl hydrocarbon receptor (AhR) inhibitor. *Cancer Res* (2019) 79:1288–1288. doi:10.1158/1538-7445.AM2019-1288
111. Schmees N, Gutcher I, Roehn U, Irlbacher H, Stoeckigt D, Bader B, Kober C, Roese L, Carretero R, Oezen I, et al. Abstract 4454: Identification of BAY-218, a potent and selective small-molecule AhR inhibitor, as a new modality to counteract tumor immunosuppression. *Cancer Res* (2019) 79:4454–4454. doi:10.1158/1538-7445.AM2019-4454
112. Hall JM, Barhooover MA, Kazmin D, McDonnell DP, Greenlee WF, Thomas RS. Activation of the Aryl-Hydrocarbon Receptor Inhibits Invasive and Metastatic Features of Human Breast Cancer Cells and Promotes Breast Cancer Cell Differentiation. *Mol Endocrinol* (2010) 24:359–369. doi:10.1210/me.2009-0346
113. Prud'homme GJ, Gliinka Y, Toulina A, Ace O, Subramaniam V, Jothy S. Breast Cancer Stem-Like Cells Are Inhibited by a Non-Toxic Aryl Hydrocarbon Receptor Agonist. *PLOS ONE* (2010) 5:e13831. doi:10.1371/journal.pone.0013831
114. Wang T, Wyrick KL, Meadows GG, Wills TB, Vorderstrasse BA. Activation of the Aryl Hydrocarbon Receptor by TCDD Inhibits Mammary Tumor Metastasis in a Syngeneic Mouse Model of Breast Cancer. *Toxicol Sci* (2011) 124:291–298. doi:10.1093/toxsci/kfr247
115. Li P, Xu W, Liu F, Zhu H, Zhang L, Ding Z, Liang H, Song J. The emerging roles of IDO2 in cancer and its potential as a therapeutic target. *Biomed Pharmacother* (2021) 137:111295. doi:10.1016/j.biopha.2021.111295
116. Moyer BJ, Rojas IY, Murray IA, Lee S, Hazlett HF, Perdew GH, Tomlinson CR. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors activate the aryl hydrocarbon receptor. *Toxicol Appl Pharmacol* (2017) 323:74–80. doi:10.1016/j.taap.2017.03.012
117. Sørensen RB, Berge-Hansen L, Junker N, Hansen CA, Hadrup SR, Schumacher TNM, Svane IM, Becker JC, Straten P, Andersen MH. The Immune System Strikes Back: Cellular Immune Responses against Indoleamine 2,3-dioxygenase. *PLOS ONE* (2009) 4:e6910. doi:10.1371/journal.pone.0006910
118. Sørensen RB, Hadrup SR, Svane IM, Hjortsø MC, Thor Straten P, Andersen MH. Indoleamine 2,3-dioxygenase specific, cytotoxic T cells as immune regulators. *Blood* (2011) 117:2200–2210. doi:10.1182/blood-2010-06-288498
119. Andersen MH. Immune Regulation by Self-Recognition: Novel Possibilities for Anticancer Immunotherapy. *J Natl Cancer Inst* (2015) 107:djv154. doi:10.1093/jnci/djv154
120. Dey S, Sutanto-Ward E, Kopp KL, DuHadaway J, Mondal A, Ghaban D, Lecoq I, Zocca M-B, Merlo LMF, Mandik-Nayak L, et al. Peptide vaccination directed against IDO1-expressing immune cells elicits CD8+ and CD4+ T-cell-mediated antitumor immunity and enhanced anti-PD1 responses. *J Immunother Cancer* (2020) 8:e000605. doi:10.1136/jitc-2020-000605
121. Iversen TZ, Engell-Noerregaard L, Ellebaek E, Andersen R, Larsen SK, Bjoern J, Zeyher C, Gouttefangeas C, Thomsen BM, Holm B, et al. Long-lasting disease stabilization in the absence of toxicity in metastatic lung cancer patients vaccinated with an epitope derived from indoleamine 2,3 dioxygenase. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* (2014) 20:221–232. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-1560
122. Bjoern J, Iversen TZ, Nitschke NJ, Andersen MH, Svane IM. Safety, immune and clinical responses in metastatic melanoma patients vaccinated with a long peptide derived from indoleamine 2,3-dioxygenase in combination with ipilimumab. *Cytotherapy* (2016) 18:1043–1055. doi:10.1016/j.jcyt.2016.05.010
123. Kjeldsen JW, Iversen TZ, Engell-Noerregaard L, Mellempgaard A, Andersen MH, Svane IM. Durable Clinical Responses and Long-Term Follow-Up of Stage III–IV Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients Treated With IDO Peptide Vaccine in a Phase I Study—A Brief Research Report. *Front Immunol* (2018) 9:2145. doi:10.3389/fimmu.2018.02145
124. Svane I-M, Kjeldsen JW, Lorentzen CL, Martinenaite E, Andersen MH. LBA48 Clinical efficacy and immunity of combination therapy with nivolumab and IDO/PD-L1 peptide vaccine in patients with metastatic melanoma: A phase I/II trial. *Ann Oncol* (2020) 31:S1176. doi:10.1016/j.annonc.2020.08.2278
125. Riess C, Schneider B, Kehnscherper H, Gesche J, Irmischer N, Shokraie F, Classen CF, Wirthgen E, Domanska G, Zimpfer A, et al. Activation of the Kynurenine Pathway in Human Malignancies Can Be Suppressed by the Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor Dinaciclib. *Front Immunol* (2020) 11:55. doi:10.3389/fimmu.2020.00055
126. Hu M, Zhou W, Wang Y, Yao D, Ye T, Yao Y, Chen B, Liu G, Yang X, Wang W, et al. Discovery of the first potent proteolysis targeting chimera (PROTAC) degrader of indoleamine 2,3-dioxygenase 1. *Acta Pharm Sin B* (2020) 10:1943–1953. doi:10.1016/j.apsb.2020.02.010
127. Abdel-Magid AF. Targeting the Inhibition of Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO-2) for Cancer Treatment. *ACS Med Chem Lett* (2017) 8:11–13. doi:10.1021/acsmedchemlett.6b00458
128. Larkin PB, Sathyaikumar KV, Notarangelo FM, Funakoshi H, Nakamura T, Schwarcz R, Muchowski PJ. Tryptophan 2,3-dioxygenase and indoleamine 2,3-dioxygenase 1 make separate, tissue-specific contributions to basal and inflammation-induced kynurenine pathway metabolism in mice. *Biochim Biophys Acta* (2016) 1860:2345–2354. doi:10.1016/j.bbagen.2016.07.002
129. Schramme F, Crosignani S, Frederix K, Hoffmann D, Pilote L, Stroobant V, Preillon J, Driessens G, Eynde BJV den. Inhibition of Tryptophan-Dioxygenase Activity Increases the Antitumor Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Immunol Res* (2020) 8:32–45. doi:10.1158/2326-6066.CIR-19-0041
130. Gyulveszi G, Fischer C, Mirolo M, Stern M, Green L, Ceppi M, Wang H, Bürgi B, Staempfli A, Muster W, et al.

Abstract LB-085: RG70099: A novel, highly potent dual IDO1/TDO inhibitor to reverse metabolic suppression of immune cells in the tumor micro-environment. *Cancer Res* (2016) 76:LB-LB-085. doi:10.1158/1538-7445.AM2016-LB-085

131. Gullapalli S, Roychowdhury A, Khaladkar T, Sawargave S, Janrao R, Kalhapure V, Urunkar G, Kulathingal J, Lekkala RR, Bhadra S, et al. Abstract 1701: EPL-1410, a novel fused heterocycle based orally active dual inhibitor of IDO1/TDO2, as a potential immune-oncology therapeutic. *Cancer Res* (2018) 78:1701–1701. doi:10.1158/1538-7445.AM2018-1701

132. Kim C, Kim JH, Kim JS, Chon HJ, Kim J-H. A novel dual inhibitor of IDO and TDO, CMG017, potently suppresses the kynurenine pathway and overcomes resistance to immune checkpoint inhibitors. *J Clin Oncol* (2019) 37:e14228–e14228. doi:10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.e14228

133. York A. Microbiome: Gut microbiota sways response to cancer immunotherapy. *Nat Rev Microbiol* (2018) 16:121. doi:10.1038/nrmicro.2018.12

134. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, Fluckiger A, Messaoudene M, Rauber C, Roberti MP, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* (2018) 359:91–97. doi:10.1126/science.aan3706

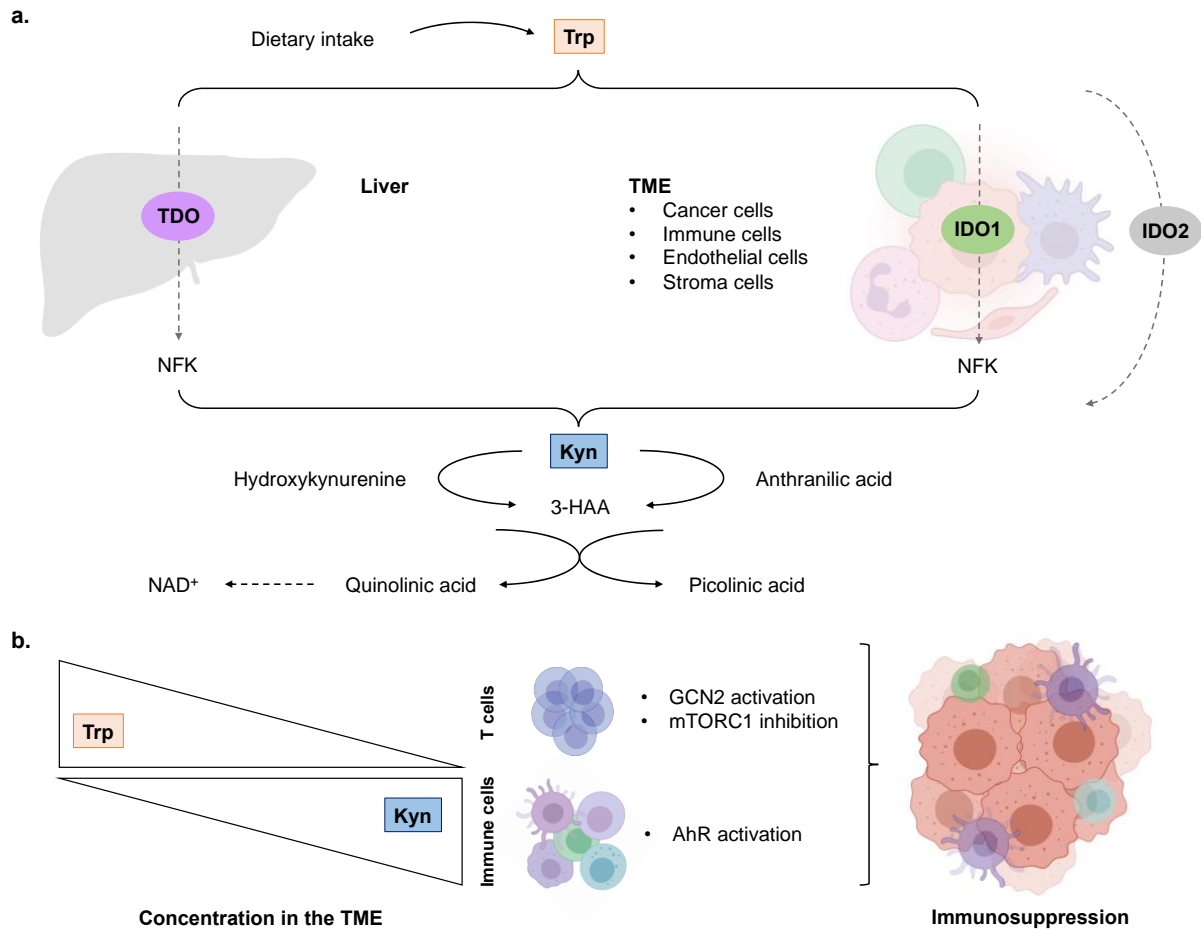
135. Gao J, Xu K, Liu H, Liu G, Bai M, Peng C, Li T, Yin Y. Impact of the Gut Microbiota on Intestinal Immunity Mediated by Tryptophan Metabolism. *Front Cell Infect Microbiol* (2018) 8: doi:10.3389/fcimb.2018.00013

136. Li H, Bullock K, Gurjao C, Braun D, Shukla SA, Bossé D, Lalani A-KA, Gopal S, Jin C, Horak C, et al. Metabolomic adaptations and correlates of survival to immune checkpoint blockade. *Nat Commun* (2019) 10:4346. doi:10.1038/s41467-019-12361-9

137. Botticelli A, Mezi S, Pomati G, Cerbelli B, Cerbelli E, Roberto M, Giusti R, Cortellini A, Lionetto L, Scagnoli S, et al. Tryptophan Catabolism as Immune Mechanism of Primary Resistance to Anti-PD-1. *Front Immunol* (2020) 11:1243. doi:10.3389/fimmu.2020.01243

VI. Figures and tables

Figure 1. The tryptophan catabolic pathway in cancer.

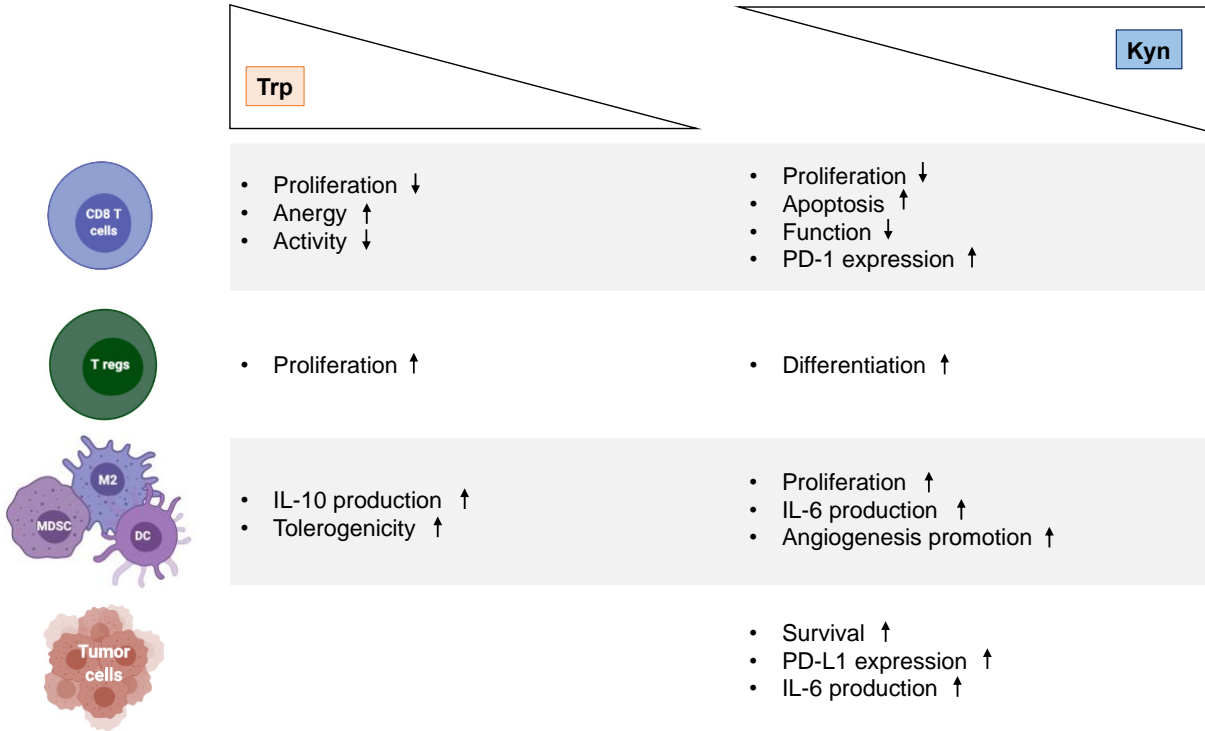


a. Provided by dietary intake, the essential amino acid Trp is catabolized into Kyn through three rate-limiting enzymes: TDO in the liver and IDO1/IDO2 in peripheral tissues. In tumor, IDO1 transforms Trp to Kyn by cleaving the 2,3-double bond of the indole ring, producing N-formyl kynurenine (NFK) that becomes rapidly and spontaneously converted into Kyn. The latter catabolite is further converted into downstream active intermediates, including hydroxykynurenine, anthranilic acid, 3-HAA, quinolinic acid and picolinic acid. The end-products of the pathway are NAD^+ and others molecules that fuel cellular metabolism.

b. Depletion of Trp in T cells suppresses activity in the mTORC1 signaling pathway and activates GCN2, inducing T cell dysfunction and leading to tumor-associated immunosuppression. Increase Kyn level in the TME leads to AhR in multiple tumor-associated immune cells, promoting immunosuppression functions.

Abbreviations: 3-HAA: 3-hydroxyanthranilic acid; AhR: aryl hydrocarbon receptor; GCN2: general control over nonderepressible 2; IDO1: indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO1); Kyn: kynurenine; NAD^+ : nicotinamide adenine dinucleotide; mTORC1: mammalian target of rapamycin complex 1; NFK: N-formyl kynurenine; TDO: tryptophan 2,3-dioxygenase; TME: tumor microenvironment; Trp: tryptophan.

Figure 2. Immunological effects of Kyn-Trp-AhR pathway in cancer.



Effects of Trp depletion and Kyn augmentation on CD8 T cells, regulatory T cells, myeloid cells (MDSC, M2, DC) and tumor cells.

Abbreviations: DC: dendritic cell; Kyn: kynurenine; IL-6: interleukin 6; MDSC: myeloid-derived suppressor cell; M2: type 2 macrophage; Trp: tryptophan.

Table 1. Clinical trials of IDO1 inhibitors.

iDO1 Drug	Target	Design	Phase	Cancer type	Patients	Intervention	Results	Study identifier
Epacadostat (INCB024360)	Potent and selective competitive IDO1 inhibitor	Monotherapy	I	Advanced solid malignancies	52	Dose escalation (50mg QD or 50, 100, 300, 400, 500, 600, 700mg BID)	- Normalization of Kyn levels at doses ≥ 100mg - No ORR, 7 SD (13.5%)	NCT01195311
			II	Myelodysplastic syndromes	15	600mg BID for 16 wk	- No hematological improvement, 12 SD (80%)	NCT01822691
			II	Advanced epithelial ovarian, primary peritoneal, or fallopian tube cancer	22	600mg BID (vs. Tamoxifen 20mg BID)	- No efficacy difference (mPFS 3.75 vs. 5.56 months, P = 0.54)	NCT01685255
		Combination with immunotherapy	I/II	Advanced solid malignancies (DLBCL, NSCLC, TNBC, HNSCC, UC, RCC, ovarian cancer, endometrial adenocarcinoma, MSI-high CRC, gastric cancer, HCC)	244	100mg BID (vs. Pembrolizumab 200mg Q3W)	- Acceptable safety profile - ORR 35%, DCR 60% in NSCLC cohort - ORR 34%, DCR 62% in HNSCC cohort - ORR 8%, DCR 35% in ovarian cohort - ORR 47%, DCR 58% in RCC cohort - ORR 10%, DCR 36% in TNBC cohort - ORR 35%, DCR 57% in UC cohort	ECHO-202/KEYNOTE-037 (NCT02178722)
			III	Unresectable or metastatic melanoma	706	100mg BID + Pembrolizumab 200mg Q3W (vs. Placebo + Pembrolizumab 200mg Q3W)	- No PFS difference (mPFS 4.7 vs. 4.9 months, HR 1.00, P = 0.52) - No OS difference (mOS NR, HR 1.13, P = 0.81)	ECHO-301/KEYNOTE-252 (NCT02752074)
			II	Advanced or metastatic HNSCC previously treated with a PD-1/PD-L1 inhibitor	-	300mg BID + Pembrolizumab 200mg Q3W	Study withdrawn	NCT03238638
			I	Advanced solid malignancies	6	25 or 100mg BID + Pembrolizumab 200mg Q3W	- Acceptable safety profile - 13.3% of grade 3/4 TRAEs	KEYNOTE-434 (NCT02862457)
			I/II	Advanced solid malignancies (NSCLC, melanoma, ovarian cancer, CRC, HNSCC, BCNHL, glioblastoma)	241	100 or 300mg BID (vs. Nivolumab 240mg Q2W)	- Acceptable safety profile - DCR 70% in HNSCC cohort (300mg) - ORR 75%, DCR 100% in melanoma cohort (100mg) - ORR 18%, DCR 36% in ovarian cohort (300mg) - ORR 4%, DCR 24% in CRC cohort (100mg)	ECHO-204 (NCT02327078)
			I	Previously treated stage IIIB or IV NSCLC and previously treated stage IV UC	29	25mg BID + Atezolizumab 1200mg Q3W	Study terminated (halted prematurely)	ECHO-110 (NCT02298153)

			Ipilimumab	I/II	Unresectable or metastatic melanoma	50	Dose escalation + Ipilimumab 3mg/kg Q3W	- ORR 26% - DLT with ≥ 100 mg BID - IDO1 inhibition at ≥ 25 mg BID	NCT01604889
			MELITAC 12.1 multi-peptide vaccine	II	Stage IIIB-IV melanoma	11	300mg BID + MELITAC 12.1 D21, 28, 35, 56, 77, 98	- PR 9%, SD 27% - 91% of Kyn/Trp ratios normalization - Enhanced CD8 T cell infiltration	NCT01961115
			CRS-207	I/II	Platinum resistant ovarian, fallopian or peritoneal cancer	35	100mg BID + CRS-207 Q3W	Study terminated (halted prematurely)	SEASCAPE (NCT02575807)
Navoximod (NLG-919 or GDC-0919)	Non competitive IDO1 inhibitor	Monotherapy	-	IA	Advanced solid malignancies	22	Dose escalation (50 to 1000mg BID)	- Acceptable safety profile - Decreased plasma Kyn	NCT02048709
		Combination with immunotherapy	Atezolizumab	I	Advanced solid malignancies	157	Dose escalation (50 to 1000mg) + Atezolizumab 1200mg Q3W	- PR 9%, ORR 10%, SD 24% - Decreased plasma Kyn with increasing doses	NCT02471846
Linrodostat (BMS-986205 or F001287)	Potent and selective competitive IDO1 inhibitor	Combination with immunotherapy	Nivolumab or Nivolumab + Ipilimumab	I/IIA	Advanced solid malignancies	907	100mg QD + Nivolumab 240mg Q2W alone or with Ipilimumab	- Acceptable safety profile - ORR 37%, DCR 56% in UC cohort	NCT02658890
PF-06840003	Potent and selective IDO1 inhibitor	Monotherapy		I	Malignant gliomas	17	Dose escalation (125, 250mg QD or 250, 500 BID)	Study terminated (halted prematurely)	NCT02764151
LY3381916	Potent and selective IDO1 inhibitor	Combination with immunotherapy	LY3300054 (anti-PD-L1)	I	Advanced solid malignancies	18	240mg QD + LY3300054 700mg Q2W	- Best response: SD	NCT03343613

* **Abbreviations** : BCNHL: B-cell non-Hodgkin lymphoma; BID: twice a day; CR: complete response; CRC: colorectal cancer; D: day; D-1-MT: 1-methyl-D-tryptophan; DCR: disease control rate (CR+PR+SD); DLBCL: diffuse large B-cell lymphoma; E: epacadostat; HCC: hepatocellular carcinoma; HNSCC: head and neck squamous-cell carcinoma; iIDO1: IDO1 inhibitor; Kyn: kynurenine; mPFS: median progression-free survival; MSI-high: microsatellite instability; NCT: national clinical trial (<https://www.clinicaltrials.gov>); NR: not reached; NSCLC: non-small cell lung carcinoma; ORR: objective response rate (CR+PR); PD-L1: programmed cell death ligand 1; PR: partial response; Q2W: every 2 weeks; Q3W: every 3 weeks; QD: once a day; RCC: renal-cell carcinoma; SD: stable disease, TNBC: triple negative breast cancer; TRAE: treatment-related adverse event; Trp: tryptophan; UC: urothelial carcinoma.

Table 2. Ongoing clinical trials of Trp metabolism-targeting therapies in combination with immunotherapy.

Mechanism	Drug	Target	Immunotherapy	Phase	Cancer type	Patients	Intervention	Status	Study identifier		
IDO1 inhibitors	Epacadostat (INCB024360)	Selective competitive IDO1 inhibitor	Pembrolizumab	III	First-line treatment for mRCC	129	Epacadostat + Pembrolizumab (vs. Sunitinib or Pazopanib)	Active, not recruiting	ECHO-302/KEYNOTE-679 (NCT03260894)		
				III	First-line treatment for HNSCC	89	Epacadostat + Pembrolizumab (vs. Pembrolizumab or chemotherapy)	Active, not recruiting	ECHO-304/KEYNOTE-669 (NCT03358472)		
				II	Unresectable or metastatic GEJ and gastric adenocarcinoma	3	Epacadostat + Pembrolizumab	Completed	NCT03196232		
						II	Metastatic pancreatic cancer	44	Epacadostat + Pembrolizumab + CRS-207 +/- Cyclophosphamide + GVAX	Recruiting	NCT03006302
						I/II	Advanced or metastatic solid malignancies	70	Epacadostat + Pembrolizumab + Chemotherapy (among 7 regimens)	Completed	ECHO-207/KEYNOTE-723 (NCT03085914)
						II	Thymic carcinoma	45	Epacadostat + Pembrolizumab	Active, not recruiting	NCT02364076
						II	Sarcoma	30	Epacadostat + Pembrolizumab	Active, not recruiting	NCT03414229
						II	Unresectable HNSCC	14	Epacadostat + Pembrolizumab + Tavokinogene Telseplasmid with electroporation	Active, not recruiting	NCT03823131
							Advanced solid malignancies (pancreas, melanoma, NSCLC, HNSCC)	176	Epacadostat + Durvalumab	Completed	ECHO-203 (NCT02318277)
							Unresectable or metastatic solid tumors	100	Epacadostat + Retifanlimab	Active, not recruiting	POD1UM-102 (NCT03589651)
							Advanced or metastatic endometrial cancer	220	Epacadostat + Retifanlimab	Recruiting	POD1UM-204 (NCT04463771)
							Locally recurrent or metastatic breast cancer	60	Epacadostat + Retifanlimab + SV-BR-1-GM	Recruiting	NCT03328026
							Recurrent gliomas	55	Retifanlimab + Bevacizumab + Radiotherapy +/- Epacadostat	Recruiting	NCT03532295
							Neoadjuvant urothelial carcinoma	45	Epacadostat + Retifanlimab	Not yet recruiting	OPTIMUS (NCT04586244)
							Ovarian, fallopian tube or primary peritoneal cancer in remission	40	Epacadostat + CDX-1401 + TLR3 agonist (poly ICLC)	Active, not recruiting	NCT02166905
				Advanced solid malignancies	113	Epacadostat + bispecific PD-L1/TGFβ Ab + IL15 agonist + BN-Brachyury vaccine	Recruiting	QuEST1 (NCT03493945)			

vaccine								
Linrodostat (BMS-986205 or F001287)	Potent and selective competitive IDO1 inhibitor	Nivolumab	I/II	Advanced or metastatic solid malignancies	12	Linrodostat + Nivolumab	Active, not recruiting	NCT03792750
			II	Stage II-IV HNSCC		Linrodostat + Nivolumab	Recruiting	NCT03854032
			II	Recurrent or persistent endometrial carcinoma or endometrial carcinosarcoma	50	Linrodostat + Nivolumab	Recruiting	NCT04106414
			I/IIa	Advanced or metastatic solid malignancies	516	Linrodostat + Nivolumab +/- Ipilimumab	Recruiting	NCT02658890
			I/II	Advanced or metastatic solid malignancies	230	Linrodostat + Nivolumab +/- Ipilimumab or Relatlimab	Recruiting	NCT03459222
			III	Muscle invasive bladder cancer	1200	Chemotherapy +/- Linrodostat +/- Nivolumab	Recruiting	NCT03661320
			I	Newly diagnosed glioblastoma	30	Linrodostat + Nivolumab + Radiotherapy +/- Temozolomide	Recruiting	NCT04047706
			II	Advanced mRCC	200	Linrodostat + Nivolumab	Recruiting	FRACTION-RCC (NCT02996110)
			I	Advanced or metastatic solid malignancies	50	Linrodostat + Nivolumab	Recruiting	ADVISE (NCT03335540)
II	BCG-unresponsive non- muscle invasive bladder cancer	69	Linrodostat + Nivolumab +/- BCG therapy	Active, not recruiting	CheckMate 9UT (NCT03519256)			
KHK2455	Long acting and selective IDO1 inhibitor	Avelumab	I	Locally advanced or metastatic urothelial carcinoma	50	KHK2455 + Avelumab	Recruiting	NCT03915405
Navoximod (NLG-919 or GDC-0919)	Non competitive IDO1 inhibitor	-	-	-	-	-	-	-
Indoximod (1MT or NLG- 8189)	Competitive IDO1 inhibitor (Trp mimetic)	-	-	-	-	-	-	-
MK-7162	Selective IDO1 inhibitor	-	-	-	-	-	-	-
LY3381916	Selective and potent IDO1 inhibitor	-	-	-	-	-	-	-
PF-06840003	Selective IDO1 inhibitor	-	-	-	-	-	-	-
Recombinant	-	-	-	-	-	-	-	-

kynureninases

AhR modulators	BAY2416964	AhR inhibitor	Pembrolizumab	I	Advanced or metastatic solid malignancies	78	BAY2416964 + Pembrolizumab	Not yet recruiting	NCT04999202
	IK-175	AhR inhibitor	Nivolumab	I	Advanced or metastatic solid malignancies	93	IK-175 +/- Nivolumab	Recruiting	NCT04200963
Others	IO-102	Single PD-L1/IDO peptide vaccine	Pembrolizumab	I/II	First-line treatment for NSCLC	108	IO-102 + Pembrolizumab +/- Chemotherapy (Carboplatin-Pemetrexed)	Active, not recruiting	NCT03562871
			Nivolumab	I/II	Naïve and anti-PD-1/PD-L1 refractory metastatic melanoma	50	IO-102 + Nivolumab	Recruiting	NCT03047928
	SHR9146 (HTI-1090)	Dual IDO/TDO inhibitor	Camrelizumab	I	Advanced or metastatic solid malignancies	200	SHR9146 + Camrelizumab	Unknown	NCT03491631

* **Abbreviations:** 1MT: 1-methyl-D-tryptophan; Ab: antibody; GEJ: gastroesophageal junction; ICI: immune-checkpoint inhibitors; IDO: indoleamine 2-3-dioxygenase; IL: interleukin; HNSCC: head and neck squamous cell carcinoma; mRCC: metastatic renal cell carcinoma; NSCLC: non-small cell lung cancer; PD-1: programmed cell death protein 1; PD-L1: PD-1 ligand; TLR3: toll-like receptor 3; Trp: tryptophan.

PARTIE 4 – DISCUSSION

I. Article original

Sur la base de deux cohortes indépendantes, l'objectif de cette étude était d'examiner l'association entre la Kyn, le Trp et le ratio Kyn/Trp circulants avec la réponse aux ICI chez les patients atteints de tumeurs solides avancées. En résumé, nous avons montré que le taux plasmatique pré thérapeutique de Trp prédit la réponse aux ICI, suggérant son rôle comme potentiel biomarqueur d'efficacité. En particulier, un niveau élevé de Trp était associé à un bénéfice clinique durable et à une survie prolongée. De plus, nous avons aussi montré que les variations temporelles du Trp plasmatique étaient corrélées à la survie des patients sous ICI, mettant en évidence un possible mécanisme de résistance primaire à l'immunothérapie.

Les sources qui contribuent à ces variations du Trp plasmatique restent peu claires. Le catabolisme du Trp est physiologiquement régulé par IDO1, TDO et d'autres enzymes qui catalysent la conversion du Trp en Kyn, et joue un rôle central dans la progression tumorale et la régulation des réponses immunitaires anti-tumorales (119,120). En effet, dans le cadre de mécanismes concertés qui se produisent au sein du microenvironnement tumoral, les cellules cancéreuses expriment ou régulent l'expression de IDO1 et/ou TDO de manière constitutive, et contraignent les cellules immunitaires intra tumorales à exprimer IDO1, ce qui permet d'échapper à l'immunosurveillance (121,122). Pour corroborer ces résultats, l'analyse du profil métabolique d'une centaine de lignées cellulaires cancéreuses a révélé une production aberrante de Kyn, et que la Kyn sécrétée pouvait être attribuée à l'expression de IDO1 par les cellules cancéreuses (123). A noter, les variations du niveau intracellulaire de Trp n'ont pas été rapportées dans cette dernière étude. Dans l'ensemble, ces données suggèrent que les cellules tumorales utilisent probablement la surexpression de IDO1 pour convertir le Trp en Kyn, ce qui entraîne une déplétion du Trp dans le plasma des patients atteints de cancer et altère l'immunité anti-tumorale. Ainsi, les taux circulants de Trp peuvent être utilisés comme un biomarqueur de substitution de l'activité de IDO1 dans les tumeurs. Cependant,

outre la tumeur, d'autres sources de conversion de Trp en Kyn issues de l'hôte ne peuvent être exclues, telles que les cellules immunitaires ou le microbiote (112,113,124–126).

De manière concordante, de nombreuses études ont démontré qu'une conversion accrue de Trp en Kyn exerce des effets immunosuppresseurs par le biais de l'activation de l'AhR, entraînant une baisse de la prolifération des LyT effecteurs et une augmentation de la génération de Tregs (127–130). Ainsi, il en résulte une diminution des réponses immunitaires anti-tumorales. Plus intéressant encore, des données précliniques suggèrent que l'activité de IDO1 est impliquée dans la résistance primaire aux ICI (116,131). Par conséquent, en ciblant cette voie, le niveau de Trp circulant pourrait être augmenté, la résistance immunitaire des tumeurs pourrait être inversée et l'efficacité des ICI pourrait être améliorée (115,119,131). En effet, les anticorps ciblant PD-1/PD-L1 ont démontré un effet anti-tumoral puissant associé à une augmentation de la survie dans des modèles murins de mélanomes B16 *IDO1* knockout. Dans un autre modèle murin de mélanome *IDO1*-proficient, l'association d'ICI avec des inhibiteurs d'IDO1 a montré un effet thérapeutique synergique pour permettre le rejet de la tumeur, et cette réponse était dépendante des LyT (131). De même, l'activité limitée de l'inhibition du PD-1 dans certains types de sarcomes est expliquée par la présence d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur résultant de l'activation de la voie IDO1 (132). Cependant, dans une série de cancers du rein métastatiques, l'expression de IDO1 dans les cellules endothéliales tumorales était associée à de meilleurs taux de réponse aux anti-PD-1, soulignant l'importance du sous-type histologique et du type de cellules du microenvironnement (133). Dans notre étude, nous avons constaté que les ICIs semblaient être plus efficaces lorsque le niveau de Trp est élevé, ce qui pourrait refléter une activité de IDO1 naturellement faible dans la tumeur, et donc une production de Kyn diminuée. Ainsi, on peut supposer que les patients présentant une activité intra tumorale élevée de IDO1, qui conduit à un état plus tolérogène dans le microenvironnement tumoral par le biais d'une régulation positive des Tregs et d'une régulation négative des LyT CD8 effecteurs, pourraient bénéficier d'agents ciblant IDO1 pour renforcer l'immunité anti-tumorale. Par conséquent, nos données illustrent que l'utilisation combinée d'ICI et d'inhibiteurs d'IDO1 pourrait ne profiter qu'à un groupe sélectionné de patients présentant une activation de la voie de la Kyn. Étant

donné les résultats décevants de l'inhibition combinée de PD-1 et IDO1 parmi une population de patients non sélectionnés dans des essais randomisés, nos données soulignent la nécessité et la faisabilité de la stratification des patients par le dosage des métabolites circulants de la voie du Trp, et plus généralement, sur la pertinence de connaître l'état métabolique de la tumeur dans l'immunothérapie du cancer (134,135).

Des preuves de plus en plus nombreuses montrent que IDO1 et la voie Kyn-Trp-AhR sont des acteurs essentiels qui font le lien entre l'inflammation et l'évasion immunitaire, et entraînent l'échec des ICIs (136). Sur la base de ce postulat, nous avons supposé que les taux plasmatiques de Trp, reflétant l'activité de IDO1 dans la tumeur, peuvent être associés à d'autres caractéristiques du microenvironnement tumoral, telles que l'expression tumorale de PD-L1 et la densité de LyT CD8 intra tumoral. Dans notre étude, nous avons observé une augmentation de l'expression tumorale du PD-L1 chez les patients Trp^{Low}, ce qui suggère une résistance immunitaire plus importante dans le microenvironnement, potentiellement due à l'activité intra tumorale de IDO1. Cette hypothèse est soutenue par l'association qui existe entre la voie de la Kyn et les checkpoints immunitaires PD-1/PD-L1. En effet, sur la base de données du TCGA (The Cancer Genome Atlas) sur 30 types de tumeurs solides, l'expression de IDO1 était fortement corrélée à l'expression de PD-1 (137). Récemment, il a été observé que l'induction et l'activation de AhR par la Kyn régulent à la hausse l'expression de PD-1, à la fois chez les souris porteuses de tumeurs et chez les patients atteints de cancer, ce qui favorise un milieu tolérogène (118). De plus, nous avons constaté que les patients Trp^{High} avec des tumeurs n'exprimant pas le PD-L1 (PD-L1^{Neg}) ou avec une faible infiltration tumorale de LyT CD8 (CD8^{Low}) avaient une réponse prolongée aux ICIs, suggérant une immunité anti-tumorale préalable hautement compétente. Par conséquent, les interventions thérapeutiques visant à moduler l'axe Trp-Kyn-AhR, et plus généralement le catabolisme du Trp, pourraient avoir le potentiel de rendre « chaudes » des tumeurs « froides » immunologiquement insensibles, et donc d'agir en synergie avec les ICIs pour améliorer leur efficacité clinique (138–140).

Le développement de l'immunothérapie anti-cancéreuse manque encore de marqueurs précis capables de prédire l'efficacité des ICI, ce qui a ouvert la voie à de

nombreuses études axées sur la recherche de biomarqueurs prédictifs dérivés du sang (105,107,141–143). Des études antérieures concordantes ont démontré une association entre le niveau de Kyn/Trp plasmatique et la réponse à l'immunothérapie par anti-PD1/PD-L1 (144–147). Plus précisément, le ratio Kyn/Trp avant traitement était significativement plus élevé chez les patients en progression précoce dans une cohorte de CBPNC traitée par nivolumab. De même, la survie était prolongée chez les patients présentant un ratio Kyn/Trp diminuée, ce qui suggère un intérêt de ce ratio comme biomarqueur prédictif de la résistance primaire aux ICIs (145,148). De plus, l'analyse des métabolites sériques chez des patients atteints de mélanome avancé et de cancer du rein traités par anti-PD-1 a identifié l'augmentation du ratio Kyn/Trp comme un mécanisme de résistance adaptative, et ce ratio Kyn/Trp élevé était associé à une survie globale plus faible (147). D'autre part, le profil métabolique plasmatique de patients atteints de CBNPC a montré que les taux de Trp avant traitement par anti-PD-1/PD-L1 étaient significativement plus élevés chez les répondeurs par rapport aux non répondeurs (149). Dans notre étude, nous avons observé un effet similaire chez les patients traités par ICI, où une baisse du Trp était associée à une résistance au traitement. En effet, la diminution des taux de Trp circulants observée pourrait être associée à un microenvironnement immunosuppresseur adaptatif qui inhiberait l'action des ICIs et contribuerait à la résistance à l'immunothérapie (150). Cependant, les changements du taux de Kyn ou du ratio Kyn/Trp entre la semaine 6 et l'initiation du traitement n'étaient pas associés aux résultats cliniques, soulignant ainsi l'intérêt majeur du Trp sur la prédiction de la réponse immunitaire anti-tumorale des ICI. Ces résultats plaident en faveur d'une stratification des patients et d'une surveillance métabolique dans les essais cliniques d'immunothérapie, y compris ceux combinant le blocage de PD-1/PD-L1 et les agents ciblant la voie Kyn-Trp-AhR.

Les limites de notre travail reposent notamment sur la conception de l'étude, dans laquelle l'analyse ancillaire peut avoir introduit divers biais. En outre, malgré les nombreuses études qui utilisent les taux plasmatiques de Kyn et de Trp comme indicateurs de l'activité de IDO1, il est difficile de savoir si ces taux circulants permettent de prédire avec précision et efficacité l'activité tumorale de IDO1. Alors que IDO1 est exprimée physiologiquement dans de nombreux types de tissus, il serait pertinent d'évaluer simultanément les taux plasmatiques de Kyn, de Trp et

l'expression tumorale de IDO1, et de déterminer ainsi leurs valeurs pronostiques et prédictives dans la réponse aux ICIs. Si l'on considère uniquement le taux de Trp circulant, il convient donc d'étudier plus en détail ce métabolite afin d'identifier s'il peut servir de biomarqueur pour sélectionner et stratifier les patients, notamment dans le contexte de l'immunothérapie et en particulier pour les médicaments ciblant la voie Trp-Kyn-AhR. De plus, des données récentes issues d'études sur différents types de cancer indiquent l'existence de voies enzymatiques alternatives dans le catabolisme du Trp impliquant TDO et, dans une moindre mesure, IDO2 (151,152). L'enzyme TDO, qui est considérée comme responsable de la régulation des taux systémiques de Trp par le foie, est exprimée de manière constitutive dans certains cancers et semble également capable d'inhiber les réponses immunitaires anti-tumorales (151,153,154). Cette fonction peut expliquer la discordance entre la valeur prédictive du Trp circulant par rapport à la Kyn circulante ou au ratio Kyn/Trp observée dans notre étude. De plus, une étude récente a montré que des taux élevés de Trp chez des souris TDO-déficientes annulaient la suppression immunitaire tumorale induite par IDO1, conduisant à l'efficacité de l'anticorps anti-PD-1 en monothérapie dans les tumeurs du colon MC38 IDO1-déficientes (155). Ces considérations biologiques suggèrent une couche supplémentaire de complexité qui mérite des investigations supplémentaires pour mieux comprendre l'interaction entre le microenvironnement local de la tumeur et l'immunité périphérique, en particulier dans le contexte de l'immunothérapie anti-cancéreuse.

Notre compréhension des déterminants de l'immunité anti-tumorale s'est améliorée et nous savons que les biomarqueurs isolés sont insuffisants. Par conséquent, le rôle du Trp plasmatique doit être évalué et interprété en tenant compte des autres paramètres immunologiques tissulaires et circulants, tels que les sous-populations lymphocytaires, les MDSCs, les cytokines, les checkpoints immunitaires et le microbiote. Les stratégies combinatoires de biomarqueurs qui prennent en compte les attributs de l'écosystème immunitaire de l'hôte et de la tumeur seront essentielles dans le futur. De même, en raison de la complexité des interactions entre la tumeur et le système immunitaire, les biomarqueurs statiques pourraient ne pas être suffisants pour prédire avec précision la réponse aux ICIs et, par conséquent, nécessiter une combinaison de biomarqueurs dynamiques (156).

II. Article de revue

L'immunothérapie anti-cancéreuse a connu un immense succès ces dernières années avec l'utilisation des inhibiteurs de PD-1/PD-L1 et CTLA-4 dans le traitement de nombreux types de tumeurs. Cependant, la majorité des patients n'en tire aucun bénéfice, ce qui souligne la nécessité de développer de nouvelles stratégies de traitement pour contourner les résistances primaires ou secondaires associées aux immunothérapies. Les cellules cancéreuses utilisent divers mécanismes biologiques pour générer un environnement immunitaire permissif et ainsi échapper à la réponse immunitaire anti-tumorale générée par l'hôte. La régulation positive de la voie Trp-Kyn-AhR a été identifiée comme l'un de ces mécanismes. Sous l'action de IDO1 (et dans une moindre mesure IDO2 et TDO) surexprimée par de nombreux types cellulaires au sein de la tumeur, tels que les cellules cancéreuses ou les MDSCs, le Trp est converti en métabolite immunosuppresseur, la Kyn. Par la suite, la Kyn se lie à l'AhR des cellules T et supprime leur prolifération et leur activité cytotoxique, atténuant ainsi l'immunité anti-cancéreuse. Par conséquent, l'association de thérapies ciblant le catabolisme du Trp et d'ICI a suscité de grands espoirs dans le domaine de l'immunothérapie.

À ce jour, l'évaluation des inhibiteurs de IDO1, seuls ou associés aux ICI, dans le cadre d'essais cliniques, a donné des résultats décevants, ce qui souligne l'importance d'une compréhension plus approfondie des mécanismes moléculaires impliqués dans la fonction immunorégulatrice du catabolisme du tryptophane afin d'optimiser les stratégies thérapeutiques. Ce domaine reste controversé mais suggère la nécessité d'études précliniques efficaces et physiologiquement pertinentes pour identifier au mieux les conditions dans lesquelles les inhibiteurs de IDO1 et la modulation du métabolisme du Trp au sein du microenvironnement tumoral peuvent apporter un bénéfice clinique pour les patients atteints de cancer. Les stratégies combinatoires et innovantes ciblant la voie Trp-Kyn-AhR, tels que les modulateurs de AhR ou les kynureninases, peuvent offrir de nouvelles opportunités afin d'élargir la fenêtre thérapeutique de nombreux traitements, notamment à l'ère de l'immunothérapie.

III. Conclusion

En conclusion, nous avons constaté que le taux de Trp circulant pré thérapeutique prédit la survie et la réponse aux ICIs chez les patients atteints de tumeurs solides avancées. De plus, l'altération dynamique du Trp dans le plasma semble être associée à la résistance primaire aux ICI, indépendamment du type de tumeur primaire, et peut donc servir de biomarqueur prédictif potentiel de l'efficacité des ICIs. Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent des implications pour la conception et l'interprétation de nouvelles modalités thérapeutiques combinant l'inhibition des checkpoints immunitaires et le ciblage de la voie Trp-Kyn-AhR.

BIBLIOGRAPHIE

1. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 – Tumeurs solides. :372.
2. Colonna M, Boussari O, Cowppli-Bony A, Delafosse P, Romain G, Grosclaude P, et al. Time trends and short term projections of cancer prevalence in France. *Cancer Epidemiol.* 2018 Oct;56:97–105.
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 May;71(3):209–49.
4. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. *Cancer Statistics, 2021.* *CA Cancer J Clin.* 2021 Jan;71(1):7–33.
5. Marant-Micallef C. Number and fractions of cancers attributable to lifestyle and environmental risk factors in metropolitan France in 2015: main results. 2015;7.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 2011 Mar;144(5):646–74.
7. Gajewski TF, Schreiber H, Fu Y-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol.* 2013 Oct;14(10):1014–22.
8. Coley WB. II. Contribution to the Knowledge of Sarcoma. *Ann Surg.* 1891 Sep;14(3):199–220.
9. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop.* 1991 Jan;(262):3–11.
10. Ehrlich, P. Ueber den jetzigen stand der Karzinomforschung. *Ned.Tijdschr. Geneeskd.* 5, 273–290 (1909).
11. Burnet M. Cancer—A Biological Approach. *Br Med J.* 1957 Apr 13;1(5023):841–7.
12. Thomas L. On immunosurveillance in human cancer. *Yale J Biol Med.* 1982;55(3–4):329–33.
13. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol.* 2002 Nov;3(11):991–8.
14. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Immunobiology of Cancer Immunoeediting and Immunoeediting. *Immunity.* 2004 Aug 1;21(2):137–48.
15. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331(6024):1565–70.
16. Burstein NA, Law LW. Neonatal thymectomy and non-viral mammary tumours in mice. *Nature.* 1971 Jun 18;231(5303):450–2.
17. Shinkai Y, Rathbun G, Lam KP, Oltz EM, Stewart V, Mendelsohn M, et al. RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement. *Cell.* 1992 Mar 6;68(5):855–67.
18. Street SE, Cretney E, Smyth MJ. Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth, and metastasis. *Blood.* 2001 Jan 1;97(1):192–7.
19. Zhang L, Conejo-Garcia JR, Katsaros D, Gimotty PA, Massobrio M, Regnani G, et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med.* 2003 Jan 16;348(3):203–13.
20. Pagès F, Berger A, Camus M, Sanchez-Cabo F, Costes A, Molitor R, et al. Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2005 Dec 22;353(25):2654–66.
21. Gasser S, Raulet DH. The DNA damage response arouses the immune system. *Cancer Res.* 2006 Apr 15;66(8):3959–62.
22. Chen DS, Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity.* 2013 Jul;39(1):1–10.
23. Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:591–619.
24. Alegre ML, Noel PJ, Eisfelder BJ, Chuang E, Clark MR, Reiner SL, et al. Regulation of surface and intracellular expression of CTLA4 on mouse T cells. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1996 Dec 1;157(11):4762–70.
25. Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, Uede T, Shimizu J, Sakaguchi N, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med.* 2000 Jul 17;192(2):303–10.
26. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 1996 Mar 22;271(5256):1734–6.
27. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol.* 2007 Jul 1;19(7):813–24.
28. Inman BA, Sebo TJ, Frigola X, Dong H, Bergstralh EJ, Frank I, et al. PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial

carcinoma of the bladder and BCG-induced granulomata: associations with localized stage progression. *Cancer*. 2007 Apr 15;109(8):1499–505.

29. Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, Okazaki T, Tanaka Y, Yamaguchi K, et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Feb 27;104(9):3360–5.
30. Im SJ, Hashimoto M, Gerner MY, Lee J, Kissick HT, Burger MC, et al. Defining CD8+ T cells that provide the proliferative burst after PD-1 therapy. *Nature*. 2016 Sep;537(7620):417–21.
31. Ding L, Chen F. Predicting Tumor Response to PD-1 Blockade. *N Engl J Med* [Internet]. 2019 Jul 31 [cited 2021 Aug 3]; Available from: <https://www.nejm-org.proxy.insermbiblio.inist.fr/doi/10.1056/NEJMci1906340>
32. Chen H, Liakou CI, Kamat A, Pettaway C, Ward JF, Tang DN, et al. Anti-CTLA-4 therapy results in higher CD4+ICOShi T cell frequency and IFN-gamma levels in both nonmalignant and malignant prostate tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Feb 24;106(8):2729–34.
33. Carthon BC, Wolchok JD, Yuan J, Kamat A, Ng Tang DS, Sun J, et al. Preoperative CTLA-4 blockade: tolerability and immune monitoring in the setting of a presurgical clinical trial. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2010 May 15;16(10):2861–71.
34. Gao J, Navai N, Alhalabi O, Siefker-Radtke A, Campbell MT, Tidwell RS, et al. Neoadjuvant PD-L1 plus CTLA-4 blockade in patients with cisplatin-ineligible operable high-risk urothelial carcinoma. *Nat Med*. 2020 Dec;26(12):1845–51.
35. Quezada SA, Peggs KS, Curran MA, Allison JP. CTLA4 blockade and GM-CSF combination immunotherapy alters the intratumor balance of effector and regulatory T cells. *J Clin Invest*. 2006 Jul;116(7):1935–45.
36. Peggs KS, Quezada SA, Chambers CA, Korman AJ, Allison JP. Blockade of CTLA-4 on both effector and regulatory T cell compartments contributes to the antitumor activity of anti-CTLA-4 antibodies. *J Exp Med*. 2009 Aug 3;206(8):1717–25.
37. Read S, Greenwald R, Izcue A, Robinson N, Mandelbrot D, Francisco L, et al. Blockade of CTLA-4 on CD4+CD25+ regulatory T cells abrogates their function in vivo. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2006 Oct 1;177(7):4376–83.
38. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science*. 2008 Oct 10;322(5899):271–5.
39. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Mar 2;107(9):4275–80.
40. Sharma A, Subudhi SK, Blando J, Scutti J, Vence L, Wargo J, et al. Anti-CTLA-4 Immunotherapy Does Not Deplete FOXP3+ Regulatory T Cells (Tregs) in Human Cancers. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2019 Feb 15;25(4):1233–8.
41. Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJM, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature*. 2014 Nov;515(7528):568–71.
42. Wei SC, Levine JH, Cogdill AP, Zhao Y, Anang N-AAS, Andrews MC, et al. Distinct Cellular Mechanisms Underlie Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Checkpoint Blockade. *Cell*. 2017 Sep 7;170(6):1120–1133.e17.
43. Wei SC, Duffy CR, Allison JP. Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy. *Cancer Discov*. 2018 Sep;8(9):1069–86.
44. Wei SC, Sharma R, Anang N-AAS, Levine JH, Zhao Y, Mancuso JJ, et al. Negative Co-stimulation Constrains T Cell Differentiation by Imposing Boundaries on Possible Cell States. *Immunity*. 2019 Apr 16;50(4):1084–1098.e10.
45. 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*. 2010;363(8):711–23.
46. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O'Day S, Weber J, Garbe C, et al. Ipilimumab plus Dacarbazine for Previously Untreated Metastatic Melanoma. *N Engl J Med*. 2011 Jun 30;364(26):2517–26.
47. Schadendorf D, Hodi FS, Robert C, Weber JS, Margolin K, Hamid O, et al. Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *J Clin Oncol*. 2015 Jun 10;33(17):1889–94.
48. Perets R, Bar J, Rasco DW, Ahn M-J, Yoh K, Kim D-W, et al. Safety and efficacy of quavonlimab, a novel anti-CTLA-4 antibody (MK-1308), in combination with pembrolizumab in first-line advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2021 Mar;32(3):395–403.
49. Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2015 Jun 25;372(26):2521–32.
50. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015 Apr;16(4):375–84.
51. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med*. 2015 Jun 25;372(26):2509–20.
52. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017 Jul 28;357(6349):409–13.

53. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, Shah M, Shapira-Frommer R, Nakagawa K, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *Lancet Oncol*. 2020 Oct;21(10):1353–65.
54. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J-J, Rutkowski P, Lao CD, et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2019 Oct 17;381(16):1535–46.
55. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, Arén Frontera O, Melichar B, Powles T, et al. Survival outcomes and independent response assessment with nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in patients with advanced renal cell carcinoma: 42-month follow-up of a randomized phase 3 clinical trial. *J Immunother Cancer*. 2020 Jul;8(2):e000891.
56. Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, Havel L, Krzakowski M, Hochmair MJ, et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Dec 6;379(23):2220–9.
57. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 May 31;378(22):2078–92.
58. Burtneß B, Harrington KJ, Greil R, Soulières D, Tahara M, Castro G de, et al. Pembrolizumab alone or with chemotherapy versus cetuximab with chemotherapy for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-048): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2019 Nov 23;394(10212):1915–28.
59. Leonetti A, Wever B, Mazzaschi G, Assaraf YG, Rolfo C, Quaini F, et al. Molecular basis and rationale for combining immune checkpoint inhibitors with chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Drug Resist Updat Rev Comment Antimicrob Anticancer Chemother*. 2019 Sep;46:100644.
60. Powles T, Park SH, Voog E, Caserta C, Valderrama BP, Gurney H, et al. Avelumab Maintenance Therapy for Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med*. 2020 Sep 24;383(13):1218–30.
61. Makker V, Rasco D, Vogelzang NJ, Brose MS, Cohn AL, Mier J, et al. Lenvatinib plus pembrolizumab in patients with advanced endometrial cancer: an interim analysis of a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2019 May;20(5):711–8.
62. Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D, et al. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 2019 Mar 21;380(12):1116–27.
63. Finn RS, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim T-Y, et al. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med*. 2020 May 14;382(20):1894–905.
64. Gutzmer R, Stroyakovskiy D, Gogas H, Robert C, Lewis K, Protsenko S, et al. Atezolizumab, vemurafenib, and cobimetinib as first-line treatment for unresectable advanced BRAFV600 mutation-positive melanoma (IMspire150): primary analysis of the randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 2020 Jun 13;395(10240):1835–44.
65. Sharma P, Siddiqui BA, Anandhan S, Yadav SS, Subudhi SK, Gao J, et al. The Next Decade of Immune Checkpoint Therapy. *Cancer Discov*. 2021 Apr;11(4):838–57.
66. Boutros C, Tarhini A, Routier E, Lambotte O, Ladurie FL, Carbonnel F, et al. Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016 Aug;13(8):473–86.
67. Michot JM, Bigenwald C, Champiat S, Collins M, Carbonnel F, Postel-Vinay S, et al. Immune-related adverse events with immune checkpoint blockade: a comprehensive review. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2016 Feb;54:139–48.
68. Haanen JB a. G, Carbonnel F, Robert C, Kerr KM, Peters S, Larkin J, et al. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol*. 2017 Jul 1;28:iv119–42.
69. Tahir SA, Gao J, Miura Y, Blando J, Tidwell RSS, Zhao H, et al. Autoimmune antibodies correlate with immune checkpoint therapy-induced toxicities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019 Oct 29;116(44):22246–51.
70. Kostine M, Marabelle A, Schaefferbeke T, Kfoury M. Les limites des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire et la gestion de leur toxicité. *médecine/sciences*. 2019 Dec;35(12):949–56.
71. Ganesan S, Mehnert J. Biomarkers for Response to Immune Checkpoint Blockade. *Annu Rev Cancer Biol*. 2020 Mar 9;4(1):331–51.
72. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med*. 2012 Jun 28;366(26):2443–54.
73. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csöszs T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Nov 10;375(19):1823–33.
74. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *The Lancet*. 2016 May;387(10031):1909–20.
75. Legrand FA, Gandara DR, Mariathasan S, Powles T, He X, Zhang W, et al. Association of high tissue TMB and atezolizumab efficacy across multiple tumor types. *J Clin Oncol*. 2018 May 20;36(15_suppl):12000–12000.
76. Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2014 Dec 4;371(23):2189–99.
77. Hellmann MD, Nathanson T, Rizvi H, Creelan BC, Sanchez-Vega F, Ahuja A, et al. Genomic Features of Response to

Combination Immunotherapy in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancer Cell*. 2018 14;33(5):843-852.e4.

78. Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee EM. Tumor Mutational Burden and Response Rate to PD-1 Inhibition. *N Engl J Med*. 2017 21;377(25):2500–1.
79. Braun DA, Bakouny Z, Hirsch L, Flippot R, Van Allen EM, Wu CJ, et al. Beyond conventional immune-checkpoint inhibition — novel immunotherapies for renal cell carcinoma. *Nat Rev Clin Oncol* [Internet]. 2021 Jan 12 [cited 2021 Mar 3]; Available from: <http://www.nature.com/articles/s41571-020-00455-z>
80. Cristescu R, Mogg R, Ayers M, Albright A, Murphy E, Yearley J, et al. Pan-tumor genomic biomarkers for PD-1 checkpoint blockade–based immunotherapy. *Science*. 2018 Oct 12;362(6411):eaar3593.
81. Subudhi SK, Vence L, Zhao H, Blando J, Yadav SS, Xiong Q, et al. Neoantigen responses, immune correlates, and favorable outcomes after ipilimumab treatment of patients with prostate cancer. *Sci Transl Med*. 2020 Apr 1;12(537):eaaz3577.
82. Braun DA, Hou Y, Bakouny Z, Ficial M, Sant' Angelo M, Forman J, et al. Interplay of somatic alterations and immune infiltration modulates response to PD-1 blockade in advanced clear cell renal cell carcinoma. *Nat Med*. 2020 Jun;26(6):909–18.
83. Teo MY, Seier K, Ostrovskaya I, Regazzi AM, Kania BE, Moran MM, et al. Alterations in DNA Damage Response and Repair Genes as Potential Marker of Clinical Benefit From PD-1/PD-L1 Blockade in Advanced Urothelial Cancers. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018 10;36(17):1685–94.
84. Miao D, Margolis CA, Vokes NI, Liu D, Taylor-Weiner A, Wankowicz SM, et al. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade in microsatellite-stable solid tumors. *Nat Genet*. 2018 Sep;50(9):1271–81.
85. Loi S, Drubay D, Adams S, Pruneri G, Francis PA, Lacroix-Triki M, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Prognosis: A Pooled Individual Patient Analysis of Early-Stage Triple-Negative Breast Cancers. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2019 Mar 1;37(7):559–69.
86. Bindea G, Mlecnik B, Angell HK, Galon J. The immune landscape of human tumors: Implications for cancer immunotherapy. *Oncoimmunology*. 2014 Jan 1;3(1):e27456.
87. Sade-Feldman M, Yizhak K, Bjorgaard SL, Ray JP, de Boer CG, Jenkins RW, et al. Defining T Cell States Associated with Response to Checkpoint Immunotherapy in Melanoma. *Cell*. 2018 Nov 1;175(4):998-1013.e20.
88. Balatoni T, Mohos A, Papp E, Sebestyén T, Liszky G, Oláh J, et al. Tumor-infiltrating immune cells as potential biomarkers predicting response to treatment and survival in patients with metastatic melanoma receiving ipilimumab therapy. *Cancer Immunol Immunother CII*. 2018 Jan;67(1):141–51.
89. Beer TM, Kwon ED, Drake CG, Fizazi K, Logothetis C, Gravis G, et al. Randomized, Double-Blind, Phase III Trial of Ipilimumab Versus Placebo in Asymptomatic or Minimally Symptomatic Patients With Metastatic Chemotherapy-Naive Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017 Jan;35(1):40–7.
90. Antonarakis ES, Piulats JM, Gross-Goupil M, Goh J, Ojamaa K, Hoimes CJ, et al. Pembrolizumab for Treatment-Refractory Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Multicohort, Open-Label Phase II KEYNOTE-199 Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2020 Feb 10;38(5):395–405.
91. Thommen DS, Koelzer VH, Herzig P, Roller A, Trefny M, Dimeloe S, et al. A transcriptionally and functionally distinct PD-1+ CD8+ T cell pool with predictive potential in non-small-cell lung cancer treated with PD-1 blockade. *Nat Med*. 2018 Jul;24(7):994–1004.
92. Sautès-Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, Fridman WH. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019 Jun;19(6):307–25.
93. Helmink BA, Reddy SM, Gao J, Zhang S, Basar R, Thakur R, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response. *Nature*. 2020 Jan;577(7791):549–55.
94. Petitprez F, de Reyniès A, Keung EZ, Chen TW-W, Sun C-M, Calderaro J, et al. B cells are associated with survival and immunotherapy response in sarcoma. *Nature*. 2020 Jan 23;577(7791):556–60.
95. Cabrita R, Lauss M, Sanna A, Donia M, Skaarup Larsen M, Mitra S, et al. Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma. *Nature*. 2020 Jan 23;577(7791):561–5.
96. Zhou L, Xu B, Liu Y, Wang Z. Tertiary lymphoid structure signatures are associated with survival and immunotherapy response in muscle-invasive bladder cancer. *Oncoimmunology*. 2021 May 18;10(1):1915574.
97. Ruffin AT, Cillo AR, Tabib T, Liu A, Onkar S, Kunning SR, et al. B cell signatures and tertiary lymphoid structures contribute to outcome in head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Commun*. 2021 Jun 7;12(1):3349.
98. Vanhersecke L, Brunet M, Guégan J-P, Rey C, Bougouin A, Cousin S, et al. Mature tertiary lymphoid structures predict immune checkpoint inhibitor efficacy in solid tumors independently of PD-L1 expression. *Nat Cancer*. 2021 Aug;2(8):794–802.
99. Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, Escuin-Ordinas H, Hugo W, Hu-Lieskovan S, et al. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med*. 2016 Sep 1;375(9):819–29.
100. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M, Murphy E, Loboda A, Kaufman DR, et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest*. 2017 Aug 1;127(8):2930–40.
101. Grasso CS, Tsoi J, Onyshchenko M, Abril-Rodríguez G, Ross-Macdonald P, Wind-Rotolo M, et al. Conserved Interferon- γ Signaling Drives Clinical Response to Immune Checkpoint Blockade Therapy in Melanoma. *Cancer Cell*. 2020 Oct

12;38(4):500-515.e3.

102. Ferrucci PF, Gandini S, Battaglia A, Alfieri S, Di Giacomo AM, Giannarelli D, et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of ipilimumab-treated metastatic melanoma patients. *Br J Cancer*. 2015 Jun 9;112(12):1904–10.
103. Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, Bauml JM, Alley EW, Evans TL, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth*. 2017 Apr;106:1–7.
104. Bilen MA, Dutcher GMA, Liu Y, Ravindranathan D, Kissick HT, Carthon BC, et al. Association Between Pretreatment Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and Outcome of Patients With Metastatic Renal-Cell Carcinoma Treated With Nivolumab. *Clin Genitourin Cancer*. 2018 Jun;16(3):e563–75.
105. Jiang T, Qiao M, Zhao C, Li X, Gao G, Su C, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of advanced-stage cancer patients treated with immunotherapy: a meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother Cll*. 2018 May;67(5):713–27.
106. Havel JJ, Chowell D, Chan TA. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2019 Mar;19(3):133–50.
107. Loriot Y, Marabelle A, Guégan JP, Danlos FX, Besse B, Chaput N, et al. Plasma proteomics identifies Leukemia Inhibitory Factor (LIF) as a novel predictive biomarker of immune-checkpoint blockade resistance. *Ann Oncol [Internet]*. 2021 Aug 17 [cited 2021 Aug 18];0(0). Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(21\)03978-8/abstract](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(21)03978-8/abstract)
108. Bader JE, Voss K, Rathmell JC. Targeting Metabolism to Improve the Tumor Microenvironment for Cancer Immunotherapy. *Mol Cell*. 2020 Jun;78(6):1019–33.
109. Martínez-Reyes I, Chandel NS. Cancer metabolism: looking forward. *Nat Rev Cancer [Internet]*. 2021 Jul 16 [cited 2021 Aug 6]; Available from: <http://www.nature.com/articles/s41568-021-00378-6>
110. Platten M, Nollen EAA, Röhrig UF, Fallarino F, Opitz CA. Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond. *Nat Rev Drug Discov*. 2019 May;18(5):379–401.
111. Munn DH, Zhou M, Attwood JT, Bondarev I, Conway SJ, Marshall B, et al. Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science*. 1998 Aug 21;281(5380):1191–3.
112. Munn DH, Shafizadeh E, Attwood JT, Bondarev I, Pashine A, Mellor AL. Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *J Exp Med*. 1999 May 3;189(9):1363–72.
113. Hwu P, Du MX, Lapointe R, Do M, Taylor MW, Young HA. Indoleamine 2,3-dioxygenase production by human dendritic cells results in the inhibition of T cell proliferation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2000 Apr 1;164(7):3596–9.
114. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. *J Clin Invest*. 2007 May 1;117(5):1147–54.
115. Pilotte L, Larrieu P, Stroobant V, Colau D, Dolušić E, Frédéric R, et al. Reversal of tumoral immune resistance by inhibition of tryptophan 2,3-dioxygenase. *Proc Natl Acad Sci*. 2012 Feb 14;109(7):2497–502.
116. Cheong JE, Sun L. Targeting the IDO1/TDO2–KYN–AhR Pathway for Cancer Immunotherapy – Challenges and Opportunities. *Trends Pharmacol Sci*. 2018 Mar;39(3):307–25.
117. Cheong JE, Ekkati A, Sun L. A patent review of IDO1 inhibitors for cancer. *Expert Opin Ther Pat*. 2018 Apr;28(4):317–30.
118. Liu Y, Liang X, Dong W, Fang Y, Lv J, Zhang T, et al. Tumor-Repopulating Cells Induce PD-1 Expression in CD8+ T Cells by Transferring Kynurenine and AhR Activation. *Cancer Cell*. 2018 Mar;33(3):480-494.e7.
119. Uyttenhove C, Pilotte L, Théate I, Stroobant V, Colau D, Parmentier N, et al. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase. *Nat Med*. 2003 Oct;9(10):1269–74.
120. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses. *Trends Immunol*. 2013 Mar 1;34(3):137–43.
121. Théate I, van Baren N, Pilotte L, Moulin P, Larrieu P, Renauld J-C, et al. Extensive profiling of the expression of the indoleamine 2,3-dioxygenase 1 protein in normal and tumoral human tissues. *Cancer Immunol Res*. 2015 Feb;3(2):161–72.
122. Meireson A, Devos M, Brochez L. IDO Expression in Cancer: Different Compartment, Different Functionality? *Front Immunol*. 2020 Sep 24;11:531491.
123. Li H, Ning S, Ghandi M, Kryukov GV, Gopal S, Deik A, et al. The landscape of cancer cell line metabolism. *Nat Med*. 2019 May;25(5):850–60.
124. Munn DH, Sharma MD, Lee JR, Jhaveri KG, Johnson TS, Keskin DB, et al. Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase. *Science*. 2002 Sep 13;297(5588):1867–70.
125. Van der Leek AP, Yanishevsky Y, Kozyrskyj AL. The Kynurenine Pathway As a Novel Link between Allergy and the Gut Microbiome. *Front Immunol*. 2017;8:1374.
126. Laurans L, Venteclef N, Haddad Y, Chajadine M, Alzaid F, Metghalchi S, et al. Genetic deficiency of indoleamine 2,3-dioxygenase promotes gut microbiota-mediated metabolic health. *Nat Med*. 2018 Aug;24(8):1113–20.

127. Mezrich JD, Fechner JH, Zhang X, Johnson BP, Burlingham WJ, Bradfield CA. An interaction between kynurenine and the aryl hydrocarbon receptor can generate regulatory T cells. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2010 Sep 15;185(6):3190–8.
128. Opitz CA, Litzemberger UM, Sahm F, Ott M, Tritschler I, Trump S, et al. An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature*. 2011 Oct 5;478(7368):197–203.
129. Gutiérrez-Vázquez C, Quintana FJ. Regulation of the Immune Response by the Aryl Hydrocarbon Receptor. *Immunity*. 2018 Jan 16;48(1):19–33.
130. Gargaro M, Manni G, Scalisi G, Puccetti P, Fallarino F. Tryptophan Metabolites at the Crossroad of Immune-Cell Interaction via the Aryl Hydrocarbon Receptor: Implications for Tumor Immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 28;22(9):4644.
131. Holmgaard RB, Zamarin D, Munn DH, Wolchok JD, Allison JP. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a critical resistance mechanism in antitumor T cell immunotherapy targeting CTLA-4. *J Exp Med*. 2013 Jul 1;210(7):1389–402.
132. Toulmonde M, Penel N, Adam J, Chevreau C, Blay J-Y, Le Cesne A, et al. Use of PD-1 Targeting, Macrophage Infiltration, and IDO Pathway Activation in Sarcomas: A Phase 2 Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2018 Jan 1;4(1):93.
133. Seeber A, Klinglmair G, Fritz J, Steinkohl F, Zimmer K-C, Aigner F, et al. High IDO-1 expression in tumor endothelial cells is associated with response to immunotherapy in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Sci*. 2018 May;109(5):1583–91.
134. Long GV, Dummer R, Hamid O, Gajewski TF, Caglevic C, Dalle S, et al. Epacadostat plus pembrolizumab versus placebo plus pembrolizumab in patients with unresectable or metastatic melanoma (ECHO-301/KEYNOTE-252): a phase 3, randomised, double-blind study. *Lancet Oncol*. 2019 Aug;20(8):1083–97.
135. Tang K, Wu Y-H, Song Y, Yu B. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) inhibitors in clinical trials for cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol*. 2021 Dec;14(1):68.
136. Smith C, Chang MY, Parker KH, Beury DW, DuHadaway JB, Flick HE, et al. IDO is a nodal pathogenic driver of lung cancer and metastasis development. *Cancer Discov*. 2012 Aug;2(8):722–35.
137. Labadie BW, Bao R, Luke JJ. Reimagining IDO Pathway Inhibition in Cancer Immunotherapy via Downstream Focus on the Tryptophan–Kynurenine–Aryl Hydrocarbon Axis. *Clin Cancer Res*. 2019 Mar 1;25(5):1462–71.
138. Schoenfeld AJ, Hellmann MD. Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Cell*. 2020 Apr 13;37(4):443–55.
139. Prendergast GC, Mondal A, Dey S, Laury-Kleintop L, Muller AJ. Inflammatory reprogramming with IDO1 inhibitors: turning immunologically unresponsive ‘cold’ tumors ‘hot.’ *Trends Cancer*. 2018 Jan;4(1):38–58.
140. Opitz CA, Somarribas Patterson LF, Mohapatra SR, Dewi DL, Sadik A, Platten M, et al. The therapeutic potential of targeting tryptophan catabolism in cancer. *Br J Cancer*. 2020 Jan 7;122(1):30–44.
141. Chen G, Huang AC, Zhang W, Zhang G, Wu M, Xu W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature*. 2018 Aug;560(7718):382–6.
142. Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, Schleifman E, Zou W, Li Y, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nat Med*. 2018 Sep;24(9):1441–8.
143. Schalper KA, Carleton M, Zhou M, Chen T, Feng Y, Huang S-P, et al. Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors. *Nat Med*. 2020 May;26(5):688–92.
144. Botticelli A, Cerbelli B, Lionetto L, Zizzari I, Pisano A, Roberto M, et al. Abstract 5705: The key role of kynurenine in anti-PD-1 failure. *Cancer Res*. 2018 Jul 1;78(13 Supplement):5705–5705.
145. Botticelli A, Mezi S, Pomati G, Cerbelli B, Cerbelli E, Roberto M, et al. Tryptophan Catabolism as Immune Mechanism of Primary Resistance to Anti-PD-1. *Front Immunol [Internet]*. 2020 [cited 2021 May 10];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.01243/full>
146. Giannakis M, Li H, Jin C, Gopal S, Desai K, Horak C, et al. Metabolomic correlates of response in nivolumab-treated renal cell carcinoma and melanoma patients. *J Clin Oncol*. 2017 May 20;35(15_suppl):3036–3036.
147. Li H, Bullock K, Gurjao C, Braun D, Shukla SA, Bossé D, et al. Metabolomic adaptations and correlates of survival to immune checkpoint blockade. *Nat Commun*. 2019 Dec;10(1):4346.
148. Botticelli A, Cerbelli B, Lionetto L, Zizzari I, Salati M, Pisano A, et al. Can IDO activity predict primary resistance to anti-PD-1 treatment in NSCLC? *J Transl Med*. 2018 Aug 6;16:219.
149. Kocher F, Amann A, Zimmer K, Geisler S, Fuchs D, Pichler R, et al. High indoleamine-2,3-dioxygenase 1 (IDO) activity is linked to primary resistance to immunotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Transl Lung Cancer Res*. 2021 Jan;10(1):304–13.
150. Riaz N, Havel JJ, Makarov V, Desrichard A, Urba WJ, Sims JS, et al. Tumor and Microenvironment Evolution during Immunotherapy with Nivolumab. *Cell*. 2017 Nov 2;171(4):934-949.e16.
151. Yu C-P, Song Y-L, Zhu Z-M, Huang B, Xiao Y-Q, Luo D-Y. Targeting TDO in cancer immunotherapy. *Med Oncol Northwood Lond Engl*. 2017 May;34(5):73.
152. Li P, Xu W, Liu F, Zhu H, Zhang L, Ding Z, et al. The emerging roles of IDO2 in cancer and its potential as a therapeutic target. *Biomed Pharmacother*. 2021 May 1;137:11295.

153. Platten M, Wick W, Van den Eynde BJ. Tryptophan Catabolism in Cancer: Beyond IDO and Tryptophan Depletion. *Cancer Res.* 2012 Nov 1;72(21):5435–40.
154. Abdel-Magid AF. Targeting the Inhibition of Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO-2) for Cancer Treatment. *ACS Med Chem Lett.* 2017 Jan 12;8(1):11–3.
155. Schramme F, Crosignani S, Frederix K, Hoffmann D, Pilotte L, Stroobant V, et al. Inhibition of Tryptophan-Dioxygenase Activity Increases the Antitumor Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors. *Cancer Immunol Res.* 2020 Jan 1;8(1):32–45.
156. Lesterhuis WJ, Bosco A, Millward MJ, Small M, Nowak AK, Lake RA. Dynamic versus static biomarkers in cancer immune checkpoint blockade: unravelling complexity. *Nat Rev Drug Discov.* 2017 Apr;16(4):264–72.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

Rôle prédictif du tryptophane circulant sur la survie et la réponse aux inhibiteurs de checkpoint immunitaire chez les patients atteints de tumeurs solides avancées.

Introduction : Malgré le succès des inhibiteurs de checkpoint immunitaire (ICI) ciblant le PD-1 (anti-PD-1) ou son ligand (PD-L1), seule une minorité de patients atteint de cancer tire un bénéfice clinique à long terme de ces agents. Il est donc crucial d'identifier de nouveaux biomarqueurs fiables de réponse ou de résistance à ces traitements afin de sélectionner les patients les plus susceptibles d'en bénéficier. Compte tenu du rôle connu de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO1) dans la modulation de l'immunité anti-tumorale, nous avons cherché à évaluer les métabolites circulants associés à l'IDO1, à savoir la kynurenine (Kyn) et le tryptophane (Trp), comme biomarqueur possible de la réponse aux ICIs chez les patients atteints de tumeurs solides.

Méthodes : Nous avons analysé les taux de Kyn, Trp et du rapport Kyn/Trp circulants dans des échantillons de plasma, prélevés avant et pendant le traitement et mesurés par dosage immuno-enzymatique (ELISA), provenant de deux cohortes prospectives indépendantes de patients atteints de cancer traités par ICI (cohorte Découverte, n=100 ; cohorte Validation, n=292). Nous avons ensuite étudié la corrélation entre ces métabolites (Kyn, Trp et ratio Kyn/Trp), la réponse clinique (bénéfice clinique durable versus bénéfice non durable), la survie sans progression (SSP) et la survie globale (SG) par des modèles de risques proportionnels de Cox.

Résultats : Dans les cohortes Découverte et Validation, nous avons constaté qu'un taux élevé de Trp avant traitement est associé à un bénéfice clinique durable et à une survie prolongée chez les patients traités par ICI. Nous avons observé que le taux circulant de Trp est inversement proportionnel à l'expression tumorale de PD-L1. En analyse de sous-groupe, nous avons également montré qu'un taux circulant élevé de Trp est associé à une survie prolongée dans les tumeurs PD-L1 négatives et avec une faible infiltration de cellules T CD8. Dans la cohorte de validation, nous avons également démontré que la diminution du taux de Trp chez les patients recevant l'ICI est corrélée avec un résultat clinique plus défavorable et une survie plus courte, suggérant un mécanisme possible de résistance primaire.

Conclusion : Ces résultats apportent des preuves solides du rôle du Trp circulant comme biomarqueur potentiel de la réponse aux ICI et suggèrent que le ciblage de la voie catabolique du Trp, tel que IDO1, pourrait représenter une approche prometteuse pour améliorer l'efficacité de l'immunothérapie anti-cancéreuse en association aux ICI.

Mots clés : indoleamine-2,3-dioxygénase, métabolisme du tryptophane, kynurénine, immunothérapie, inhibiteur de checkpoint inhibiteur, facteur prédictif, mécanisme de résistance

Discipline : Oncologie Médicale

Université de Bordeaux – U.F.R des Sciences Médicales

146, rue Léo Saignat, Espace Santé Case 16, 33076 Bordeaux, France.