



UNIVERSITE DE LILLE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2019

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Analyse translationnelle de la réponse au pembrolizumab dans le
cancer du sein métastatique de type « triple négatif ».**

Présentée et soutenue publiquement le 29 mars 2019 à 18h
au Pôle Recherche
Par Edwina Girard

JURY

Président :

Monsieur le Professeur PENEL

Assesseurs :

Madame le Professeur COPIN

Monsieur le Professeur MORTIER

Madame le Docteur BUISSERET

Directeur de Thèse :

Madame le Docteur BUISSERET

**Travail du Laboratoire du Professeur SOTIRIOU, Laboratoire de
recherche translationnelle en cancérologie mammaire J-C Heuson,
Bruxelles.**

AVERTISSEMENT

« La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs. »

Résumé

Contexte : Le cancer du sein triple négatif (TNBC) est un sous-type de cancer du sein de mauvais pronostic dont la prise en charge thérapeutique est limitée. L'immunothérapie par inhibiteurs des points de contrôle immunitaire a montré une activité anti-tumorale pour une faible proportion de ces patientes. Pour d'autres, la progression est si rapide qu'un décès survient rapidement après l'instauration du traitement soulevant la nécessité d'exclure ces patientes pour lesquels le traitement semble toxique.

Objectif : L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques cliniques, biologiques, radiologiques et histologiques associés à la réponse ou non réponse au pembrolizumab dans le TNBC métastatique afin d'identifier des nouveaux biomarqueurs discriminants.

Méthodes : Nous avons analysé rétrospectivement 11 cas de TNBC métastatiques (PD-L1 positives) en échec de traitement standard traités par pembrolizumab (anti-PD1) dans le cadre d'études cliniques. La réalisation de frises chronologiques a permis l'analyse fine des données cliniques, biologiques et radiologiques. L'analyse radiologique a consisté à comparer le taux de croissance tumorale sous pembrolizumab et sous le traitement standard précédant. L'infiltration lymphocytaire tumorale a été évaluée au niveau des tumeurs primitives ainsi qu'au niveau de biopsies de lésions métastatiques et d'échantillons provenant de deux autopsies.

Résultats : Deux patientes ont présenté d'excellentes réponses au traitement et sont toujours en vie 4 ans après le début de leur traitement. Elles présentaient avant de commencer le traitement une plus faible charge tumorale et une maladie plus indolente. Leurs évolutions sous pembrolizumab sont marquées par l'apparition d'effets secondaires auto-immuns. Six patientes ont présenté des maladies rapidement progressives et sont décédées peu de temps après l'instauration du traitement. Leur tableau clinique se distinguait à contrario par une forte charge tumorale et des facteurs initiaux cliniques et biologiques de mauvais pronostic. Parmi ces patientes, on distinguait celles dont l'étiologie de la progression est probablement liée à l'évolution rapide d'une maladie non freinée par le traitement, et celles dont l'imputabilité du pembrolizumab ne peut être exclue. Pour distinguer ses 2 types de population, la mesure du taux de croissance tumoral est essentielle.

Conclusion : Ce travail permet d'identifier plusieurs profils de réponse au pembrolizumab chez les patientes atteintes d'un TNBC métastatique.

Introduction

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme, il touchera une femme sur 8 au cours de sa vie. On estime à 2.1 millions le nombre de nouveaux cas en 2018 (WHO. GLOBOCAN 2018). Il s'agit de la première cause de mortalité par cancer chez la femme après le cancer du poumon (2017, American Cancer Society, Inc., Surveillance Research). Au cours des dernières années, des analyses génomiques ont permis d'établir une classification moléculaire du cancer du sein basée sur le profil d'expression génique des tumeurs (1). Bien que les informations fournies par l'analyse moléculaire ne soient pas entièrement récapitulées par les marqueurs histo-pathologiques classiques, ceux-ci permettent de définir les sous-types intrinsèques en sous-types de cancers du sein utilisés pour catégoriser les patientes en clinique (2). Actuellement, on distingue 4 différents sous-types : luminal A, luminal B, HER2/neu (HER2+ ou positif) et le sous-type triple négatif. Cette classification a permis d'affiner l'évaluation du pronostic des patientes et le développement de stratégies thérapeutiques appropriées (3). En effet, les cancers de type luminaux expriment des récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone et sont donc sensibles aux hormonothérapies. Le sous-type luminal A représente environ 50% des cancers du sein et est associé à un meilleur pronostic que le sous-type luminal B caractérisé par un index de prolifération plus élevé et par conséquent à une plus grande chimiosensibilité. Le sous-type HER2+ est caractérisé par l'amplification et/ou la surexpression du gène d'un récepteur de facteur de croissance : Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 (HER2) qui est retrouvée dans 15 à 20 % des tumeurs mammaires. Initialement HER2 était considéré comme un marqueur d'agressivité tumorale de mauvais pronostic mais l'arrivée de thérapies ciblant ce récepteur HER2 (trastuzumab/pertuzumab) en clinique a permis d'améliorer le pronostic de ces patientes.

Le 4^{ème} sous-type est le cancer du sein triple négatif (« triple negative breast cancer », TNBC) qui est défini par l'absence de récepteurs hormonaux et par l'absence d'amplification et/ou de surexpression d'HER2.

Sous type Cancer du sein	<u>Luminal A</u>	<u>Luminal B</u>	HER 2 positif	Triple négatif
% de cancers du sein	45%	25 %	10-15%	12-17%
Récepteurs	RO + RP +	RO + RP+	HER2 positif	RO – RP- Her2 -
Prolifération				
Pronostic				
Traitement				

Figure 1 : Caractéristiques (prolifération/pronostic/traitements) des différentes types de cancers du sein en fonction de leur récepteurs. RO = récepteur à l'œstrogène, RP = récepteur à la progestérone.

Le TNBC touche 12 à 17% des patientes atteintes d'un cancer du sein (4,5). Il est plus représenté chez les femmes jeunes (6,7), d'origine africaine (7) et chez les patientes porteuse d'une mutation germinale « breast cancer 1 » (BRCA1) (8,9). Les TNBC sont associés à un haut grade histologique et à un stade avancé au diagnostic (10,11) . Il s'agit

du plus agressif des cancers du sein avec un mauvais pronostic et un haut risque de récurrence principalement dans les 3 ans après le diagnostic (4). Les options thérapeutiques sont limitées étant donné que seule la chimiothérapie s'est révélée efficace dans cette maladie (12). Elle permet une amélioration de la survie chez les patientes avec une tumeur diagnostiquée à un stade localisé (13) mais n'a qu'un effet très modéré sur la survie globale en situation métastatique (14) tout en compromettant grandement la qualité de vie des patientes compte tenu de sa toxicité (4). En raison de ce devenir sous-optimal sous chimiothérapie, de nouvelles thérapies pour les TNBC deviennent impératives.

Five-year relative survival of triple-negative breast cancers compared with other breast cancers by stage at diagnosis, California, 1999-2003

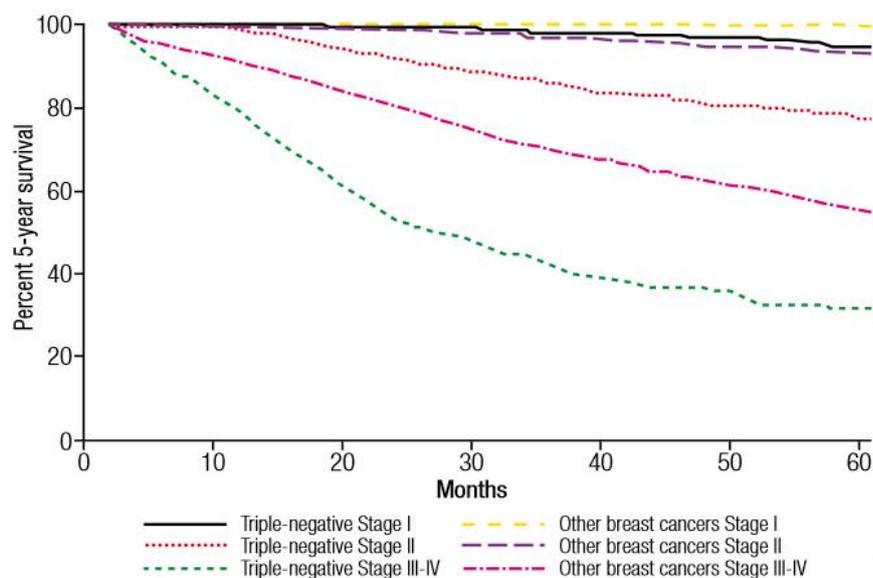


Figure 2 : *Survie à 5 ans du cancer du TNBC en fonction de son stade clinique (stade I = stade localisé et tumeur de petite taille ; stade II = envahissement ganglionnaire modéré ou taille tumorale plus importante ; stade III = envahissement ganglionnaire important et taille tumorale importante ; stade IV= envahissement à distance) et comparé aux autres types de cancers du sein (Adapté à partir de Dent et al. 2007)(5).*

L'immunothérapie anti-tumorale est une nouvelle stratégie thérapeutique en plein développement qui pourrait être une arme supplémentaire pour améliorer la prise en charge de ces patientes. Il existe plusieurs façons d'agir sur le système immunitaire. Actuellement les stratégies qui ont montré l'efficacité la plus importante en clinique sont

des agents immunomodulateurs qui agissent directement sur le système immunitaire en bloquant les points de contrôle inhibiteurs des cellules immunes. PD-1 est un récepteur inhibiteur de point de contrôle immunitaire exprimé sur les cellules T activées, les cellules B, les cellules NK, les monocytes activés, les cellules dendritiques, les cellules myéloïdes et une partie des thymocytes. PD-1 est le frein utilisé lors des réponses immunes afin de limiter l'auto-immunité en régulant l'activité des cellules T effectrices dans les tissus périphériques en réponse à des stimuli inflammatoires. Le blocage de cette voie, par des anticorps dirigés contre PD-1 ou son ligand PD-L1, a montré des signaux d'activité anti-tumorale très encourageants. De nombreuses études cliniques ont montré des résultats très prometteurs qui ont permis l'enregistrement puis le remboursement de plusieurs anticorps ciblant des points de contrôle immuns pour la prise en charge du mélanome, des cancers du poumon, de la vessie, du rein, de la tête et cou, du carcinome de Merckel et du lymphome (15–19).

Ces traitements ont également été évalués dans le cancer du sein. C'est pour le sous-type triple-négatif que les études cliniques ont montré le plus haut taux de réponse pour les inhibiteurs de la voie PD1/PDL1. Dans l'étude de phase Ib, KEYNOTE-012, évaluant le pembrolizumab, un anticorps monoclonal humanisé IgG4-k dirigé contre PD-1, 58.6% des 111 patientes atteintes d'un TNBC métastatique sélectionnées exprimaient PD-L1 au niveau du tissu tumoral. Chez 32 patientes traitées par pembrolizumab, le taux de réponse était de 18.5% (Figure 3) (16). Les toxicités auto-immunes étaient telles qu'attendues et modérées. Parmi les patientes ayant une réponse objective au traitement, 3 d'entre elles ont présenté une réponse prolongée.

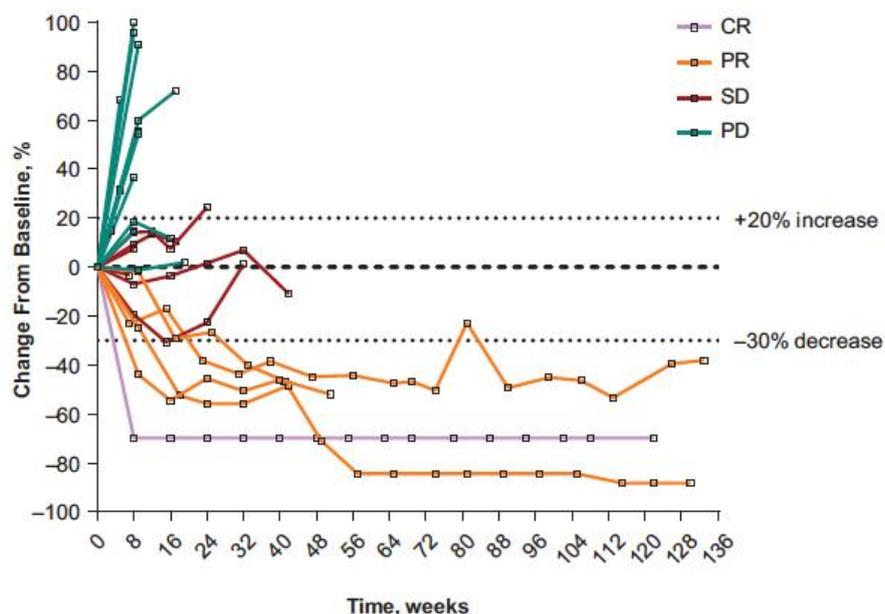


Figure 3 : Différents types de réponse au pembrolizumab dans les TNBC (étude de phase Ib KEYNOTE-012). La variation de la charge tumorale est évaluée par l'analyse radiologique des lésions tumorales selon les critères Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST) 1.1 en % de la valeur initiale (**Adapté à partir de Nanda et al, 2016 (20)**).

L'étude KEYNOTE-086, phase II suivant l'étude KEYNOTE-012, a montré un taux de réponse de 23,1% en première ligne de traitement chez les patientes métastatiques atteintes d'un TNBC (21). Plus récemment, ont été publiés les résultats du pembrolizumab en association avec la chimiothérapie. Le taux de réponse était de 33.3% pour le pembrolizumab associé à de l'éribuline et montait à 41.2% pour les patientes traitées en 1^{ère} ligne (22). Les résultats de la première étude de phase III (IMpassion 130, NCT02425891) évaluant la combinaison d'un anti-PD-L1 (atézolizumab) avec de la chimiothérapie par nab-paclitaxel en première ligne de traitement chez des patientes métastatiques atteintes d'un TNBC (23), ont montré une amélioration significative de la survie sans progression de 5.5 à 7.2 mois dans l'ensemble de la population traitée et une amélioration significative de la survie globale de 15.5 à 25 mois dans le sous-groupe des patientes avec tumeurs PD-L1 positives. Le taux de réponse complète pathologique (pCR)

est le taux de réponse histologique complète (absence de tumeur résiduelle) à la chirurgie du primitif après chimiothérapie néo-adjuvante. Il est utilisé comme substitut à la survie globale même si les dernières données de la littérature ne le valide pas (24). Dans le cadre du traitement du cancer du sein primaire TNBC, l'étude néo-adjuvante I-SPY 2 a montré une augmentation de 20 à 60% du taux de pCR (25). D'autres études évaluant la combinaison de l'immunothérapie avec la chimiothérapie néo-adjuvante sont en cours.

Ces premiers résultats chez des patientes dont actuellement la chimiothérapie est le seul traitement disponible, sont encourageants et motivent le développement de l'immunothérapie dans cette indication. Cependant, devant la faible proportion de patientes bénéficiant de cette stratégie, il est nécessaire d'identifier des biomarqueurs pouvant aider à mieux sélectionner les patients.

L'expression du PD-L1 évaluée par immunohistochimie (IHC) au niveau de la tumeur et de son microenvironnement en pré-thérapeutique est associé avec un meilleur taux de réponse (16,17,26). PD-L1 est exprimé dans le cancer du sein primaire et de façon plus fréquente dans les TNBC. L'expression de mRNA de PD-L1 est plus élevée dans les échantillons de TNBC que dans les échantillons non TNBC. On estime que le PD-L1 est exprimé dans 20 à 30% des TNBC et est associé à une infiltration lymphocytaire plus importante et à un haut grade histologique (27). Bien qu'étant le biomarqueur prédictif de réponse le plus étudié actuellement, celui-ci n'est pas optimal en raison de l'observation de réponse chez 5 à 20% des patients avec des tumeurs évaluées comme « PD-L1 négatives » (15,28). De plus, les seuils de positivités varient fortement en fonction de l'anticorps utilisé pour le test IHC et les tests développés sont différents selon chaque compagnie pharmaceutique. Un autre biomarqueur qui a été associé à la réponse aux anti-PD1 est la charge mutationnelle tumorale (tumor mutational burden, TMB). L'étude CHECKMATE 227 a évalué un traitement par nivolumab et ipilimumab en 1^{ère} ligne de

traitement des cancers bronchiques non à petites cellules métastatiques. L'analyse en sous-groupe a montré que les patients dont la tumeur avait une faible expression de PD-L1 (<1%) et une TMB \geq 10mut/MB tiraient un bénéfice en survie sans progression à la combinaison d'immunothérapies et même avec du nivolumab en monothérapie par rapport à la chimiothérapie seule (31). La raison pour laquelle ce biomarqueur est prédictif serait que les mutations sont des sources de néo-antigènes immunogènes et donc reconnus par le système immunitaire. Cependant, ce biomarqueur ne reflète pas directement la présence d'une réponse immunitaire dans une tumeur donnée. Un autre biomarqueur important en voie de développement est l'analyse des lymphocytes infiltrant la tumeur (Tumor-Infiltrating Lymphocytes, TILs) qui reflètent la réponse immune au niveau tumoral. Dans les tumeurs primaires de cancer du sein, leur présence est associée à un meilleur pronostic dans les sous-types HER2 et TNBC (32–34), et à un plus haut taux de pCR après chimiothérapie néo-adjuvante chez les patientes atteinte d'un TNBC (33). Au stade métastatique, les données concernant la valeur pronostic et prédictive des TILs sont plus limitées. Récemment, deux études ont démontré qu'un haut niveau de TILs dans les lésions tumorales métastatiques est associé à une augmentation du taux de réponse au pembrolizumab (35,36).

Afin d'augmenter le taux de réponse aux inhibiteurs de points de contrôle et d'identifier les patientes qui pourraient réellement bénéficier de cette approche thérapeutique, il est nécessaire de mieux comprendre les mécanismes associés à la réponse et non-réponse à ces traitements immunomodulateurs.

En se basant sur l'immunogramme du cancer (Figure 4) (37), nous avons analysé rétrospectivement les données cliniques et les échantillons tumoraux des patientes traitées à l'Institut Bordet de Bruxelles dans deux études cliniques évaluant le

pembrolizumab dans le TNBC métastatique afin d'identifier le profil clinique, biologique, radiologique et histologique des patientes.

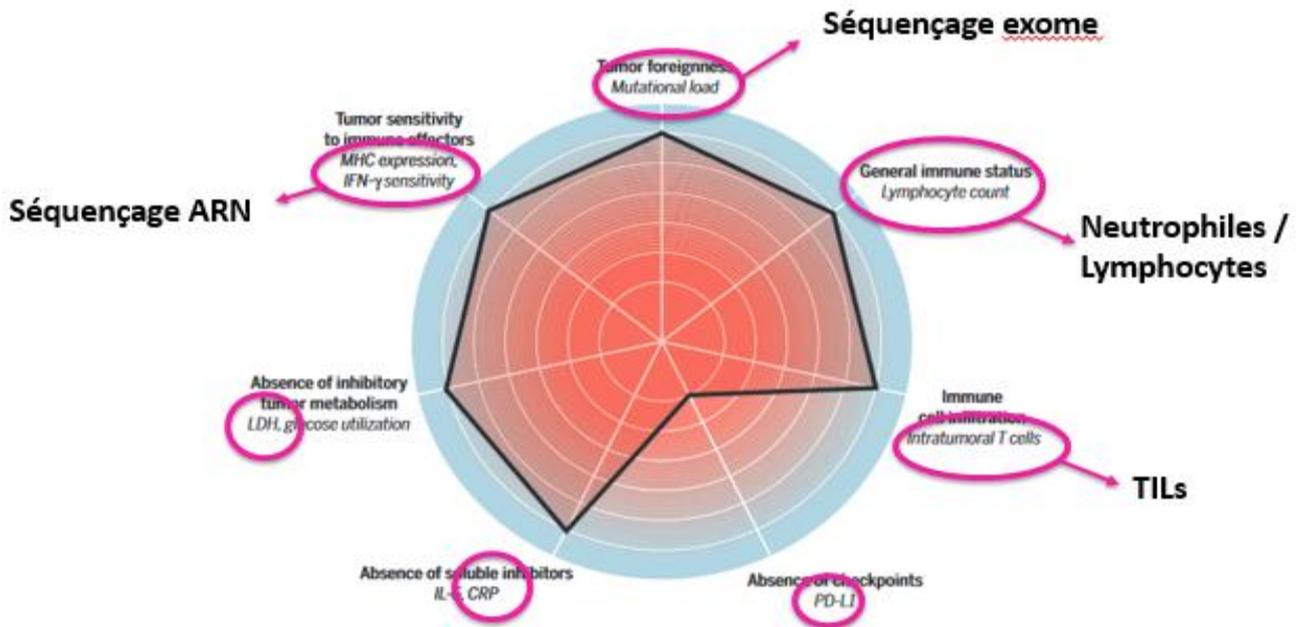


Figure 4 : Immunogramme du cancer et pistes de recherche. Le séquençage de l'exome et de l'ARN fera l'objet d'une communication ultérieure (Adapté à partir de Blank et al, 2016 (37)).

Méthodes

Patientes et échantillons :

Dans cette étude rétrospective, nous avons analysé les dossiers cliniques et les échantillons tumoraux de patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique de type TNBC incluses dans 2 études cliniques à l'Institut Jules Bordet à Bruxelles entre septembre 2013 et janvier 2014 pour l'étude de phase Ib intitulée KEYNOTE-012 (NCT01848834) et entre octobre et décembre 2015 pour l'étude de phase II intitulée KEYNOTE-086 (NCT02447003). Ces patientes étaient en échec de traitements standards et devaient exprimer PD-L1 au niveau d'un échantillon tumoral provenant d'une biopsie récente pour être incluses. L'analyse de l'expression de PD-L1 par IHC a été réalisée par la firme pharmaceutique. Le pembrolizumab était administré en monothérapie jusqu'à progression de la maladie à la dose de 10mg/kg en intra-veineux toutes les 2 semaines pour la KEYNOTE-012 et à la dose de fixe de 200 mg toutes les 3 semaines pour la KEYNOTE-086. Les caractéristiques cliniques des patientes incluses dans l'étude sont reprises dans la table 1.

	Ensemble
Nb	11
Antécédents familiaux néoplasiques évocateurs	6 (54,5%)
Mutations germinales BRCA 1 et 2	3(37%)
Cancer primitif	
Age au diagnostic	50 (20-71)
Taille (mm)	40 (22-74)
Grade histologique ²	
2	3(30%)
3	7(70%)
Atteinte ganglionnaire*	10(91%)
Ki 67 moyen	65% (20-95)
Chimiothérapie néoadjuvante	9(82%)
Récidive locale ou métastatique	
KEYNOTE-012	6
KEYNOTE-086	5
Âge	54(31-73)
Délai moyen à la récidive (mois)	39 (9-144)
Nb de sites métastatique	
≤2	5(45%)
>2	6(55%)
Nb de lignes antérieures	4 (2-9)
Chimiothérapie antérieure	11(100%)
Thérapie ciblée antérieure	6(55%)
Radiothérapie pour lésion(s) métastatique(s)	3(27%)
Durée de la maladie métastatique avant pembrolizumab (en mois)	24(5-53)
Présence de symptômes cliniques	6(55%)
Performans status	
0	3(27%)
1	8(72%)

Table 1 : Caractéristiques anatomo-cliniques des 11 patientes incluses dans l'étude au diagnostic et à la rechute de la maladie. Grade histologique : grade 1 = tumeur bien différenciée ; grade 2 = tumeur modérément différenciée ; grade 3 = tumeur peu différenciée ; Ki 67 = index de prolifération, considéré comme élevé si > à 14% ; Performans statut (PS) : PS 0 = asymptomatique, activité normale, PS=1 symptomatique mais patient ambulatoire ; PS=2 patient alité moins de 50% de la journée ; PS= 3 patient alité plus de 50% de la journée ; PS=4 patient grabataire ; PS=5 patient décédé

*² : données manquantes pour 2 patientes / * données manquantes pour 1 patiente*

Les échantillons tumoraux proviennent de blocs paraffinés (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE) des pièces chirurgicales de lésions mammaires primaires, de biopsies de récurrences locorégionales et de métastases réalisées avant l'administration du pembrolizumab. Pour 2 patientes, nous avons analysé des tissus tumoraux prélevés après traitement par pembrolizumab à l'autopsie. Le tissu normal provient également de blocs FFPE prélevés au niveau de ganglions non envahis pas la tumeur pour 6 patientes, de

tissu mammaire normal pour 1 patiente et de cellules mononuclées du sang périphérique (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) pour 2 patientes (Annexe 2). Le projet présenté dans cette thèse a reçu l'aval du comité d'éthique de l'institut Jules Bordet en juin 2016 pour l'analyse des patientes de la KEYNOTE-012 et en novembre 2017 pour les patientes de la KEYNOTE-086.

Revue des données cliniques et biologiques:

Les dossiers cliniques de toutes les patientes ont été revus afin de distinguer les différents types de réponses au pembrolizumab. Sur le plan clinique, nous avons pris en considération différents paramètres : l'évolution de l'état général de la patiente mesuré par le Performans Status (PS), l'aggravation ou l'apparition de symptômes liés à la maladie, la présence d'une défaillance d'organe, d'une hospitalisation, la survie sans progression de la maladie, la durée totale de traitement, la réponse au traitement, le nombre total d'administrations de pembrolizumab, le délai entre la dernière injection de pembrolizumab et l'éventuel décès. Sur le plan biologique, nous avons relevé les taux de lactate déshydrogénase (LDH), de la protéine C réactive (CRP), de l'albumine, des transaminases, de la bilirubine, du taux de prothrombine ainsi que les rapports neutrophiles sur lymphocytes (facteur reflétant l'inflammation systémique et associé à la réponse à l'immunothérapie (38,39). Les histoires cliniques de chaque patiente sont reprises dans des frises chronologiques présentées en annexe (Annexe 1).

Analyse radiologique des données d'imagerie :

Sur le plan radiologique, nous avons revu et analysé les examens d'imageries réalisés sous traitement par pembrolizumab et sous le traitement immédiatement antérieur de 8

patientes. Les diamètres des lésions étaient mesurés selon les règles des critères RECIST v1.1 (40). A partir de ces diamètres, nous avons extrapolé les volumes des lésions cibles. Nous avons comparé le temps de doublement volumique à partir de la somme des volumes extrapolés. Nous avons également mesuré les taux de croissance tumorale (« Tumor Growth Rate », TGR) comme défini par Ferte et al, 2014 (41) et Champiat *et al.* 2017 (42). Le TGR est le pourcentage d'augmentation du volume tumoral en 1 mois (Figure 5).

Champiat et al, 2017

$$TG = \frac{3 \log\left(\frac{D(t)}{D(0)}\right)}{t}$$
$$TGR = 100 * (\text{EXP}(TG) - 1)$$

TGR ⇔ % d'augmentation
du volume tumoral en 1
mois

Figure 5 : Tumor Growth Rate (TGR) : D(t) = diamètre à un instant t ; D(0) = diamètre au baseline

Analyse histologique des lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs) :

La présence de TILs a été évaluée par un pathologiste sur des lames colorées par hématoxyline & éosine (H&E) selon les recommandations du « Immuno-Oncology Biomarker Working Group » pour les cancers primitifs (n=10) (43) ainsi que pour les lésions tumorales métastatiques (n=16) (44) et au niveau de lésions tumorales provenant de 2 autopsies (n=6) (Figure 6).

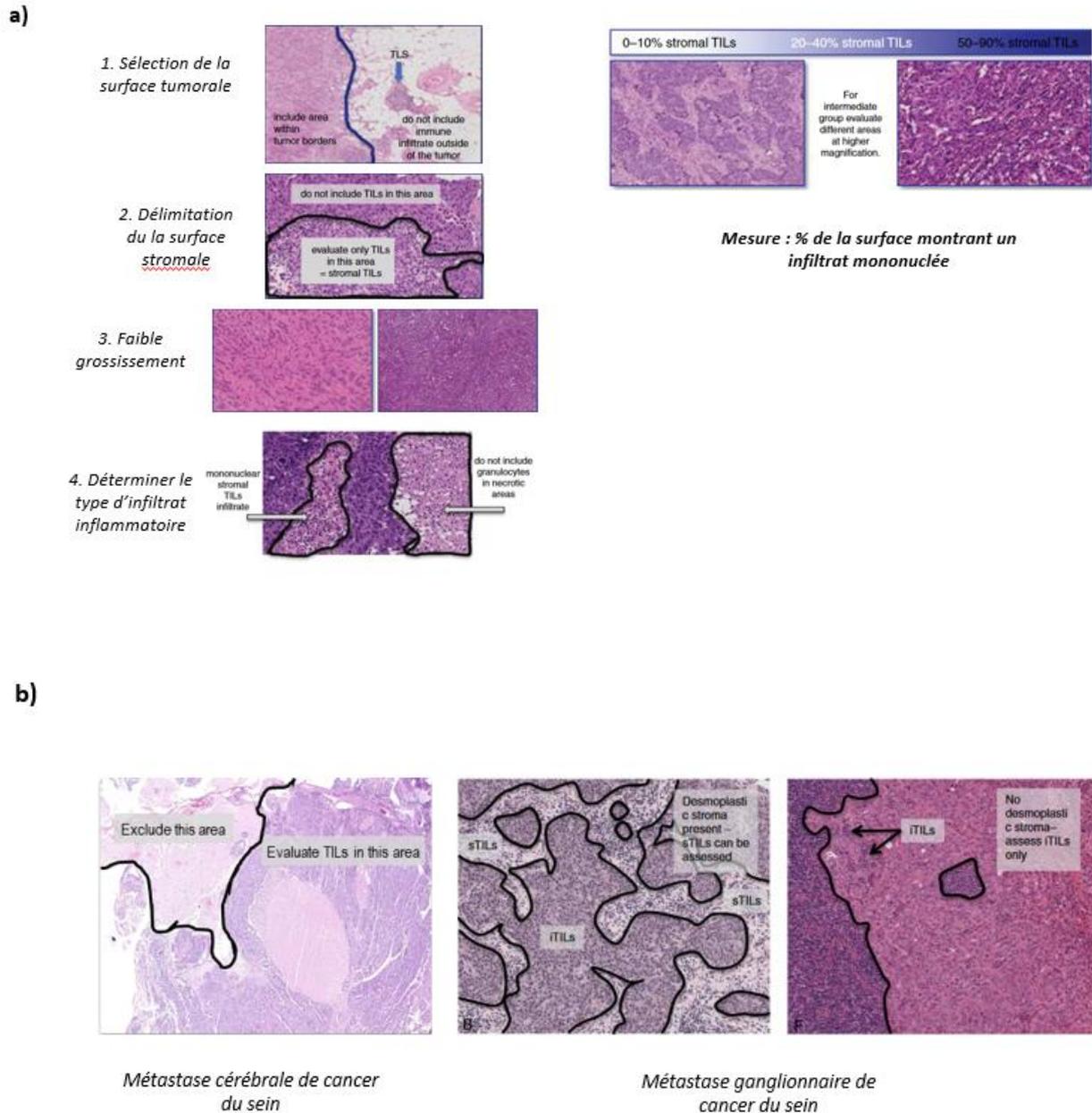


Figure 6 : **a)** Méthode de mesure des TILs sur tumeurs primaires adapté de Salgado et al, 2015 (43) : **b)** Mesures possibles sur sites métastatiques dont tissu ganglionnaire. La présence d'un stroma desmoplastique permet de mesurer les TILs au niveau ganglionnaire adapté de Hendry et al, 2017 (44).

Le pathologiste a distingué les TILs intra-tumoraux (iTILs) et stromaux (sTILs) en fonction de leur localisation par rapport aux cellules épithéliales. Les résultats sont repris en pourcentages de surface de tissu tumoral (iTILs) ou stromal (sTILs) infiltrée par des

cellules mononuclées. Les tumeurs ont été ensuite classées en fonction de la localisation de cet infiltrat lymphocytaire en tumeurs « froides » si le foyer tumoral n'est pas infiltré, en tumeurs « enflammées » si l'infiltrat occupe le corps de la tumeur (en contact avec les cellules tumorales) au niveau du stroma tumoral et péri-tumoral et en tumeurs dont seul le stroma est infiltré par des lymphocytes dites « restreintes au stroma » (45).

Résultats

Évolution clinique des patientes traitées par pembrolizumab :

La revue des données cliniques, biologiques et radiologiques ainsi que l'analyse de frises chronologiques reprenant l'évolution des 11 patientes au cours du temps a permis de distinguer trois types de réponses au pembrolizumab. Deux patientes ont présenté une très bonne réponse de longue durée au traitement que nous qualifions de « répondeuses exceptionnelles » (Figure 7). Celles-ci sont toujours vivantes plusieurs années après le début du traitement. À l'opposé de ces deux patientes, 6 patientes ont progressé très rapidement après l'instauration du traitement et sont décédées dans les 2 mois suivant la première injection de pembrolizumab. Les examens biologiques, radiologiques et d'autopsies convergent vers une progression massive et rapide de la maladie cancéreuse. Nous avons défini ces patientes par des critères clinico-biologico-radiologiques : décès dans les 3 mois maximum après la 1^{ère} injection de pembrolizumab associé à une augmentation massive de la masse tumorale définie à l'imagerie et allié à des critères biologiques : cinétique des LDH et augmentation des paramètres d'organes avec métastases comme la cytolyse hépatique par exemple. Ces patientes sont considérées comme des « hyper-progresseuses » (Figure 8). Et enfin, trois patientes sont qualifiées de

« non répondeuses » car leurs maladies n'ont pas répondu au pembrolizumab mais leur état clinique reste conservé sous traitement. Ces patientes sont décédées après avoir été traitées par d'autre(s) ligne(s) de traitement.

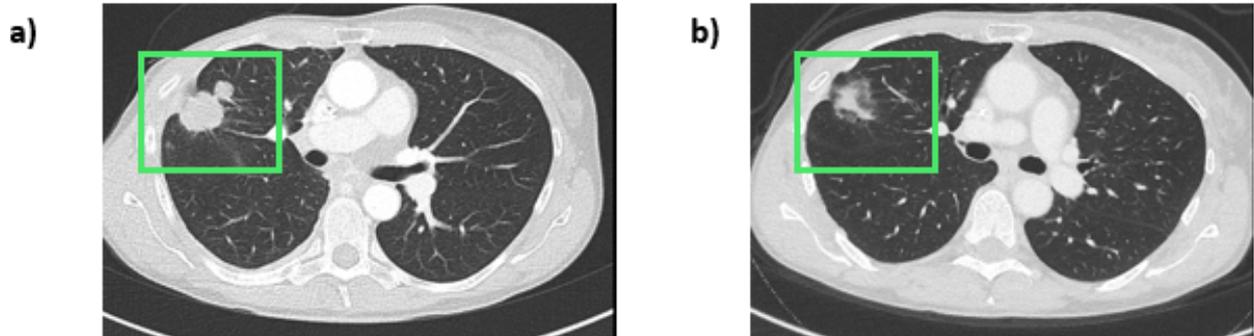


Figure 7: Scanners thoraciques d'une patiente présentant une réponse partielle exceptionnelle par sa durée dans le temps au pembrolizumab. a) Scanner initial b) Scanner à 4 ans

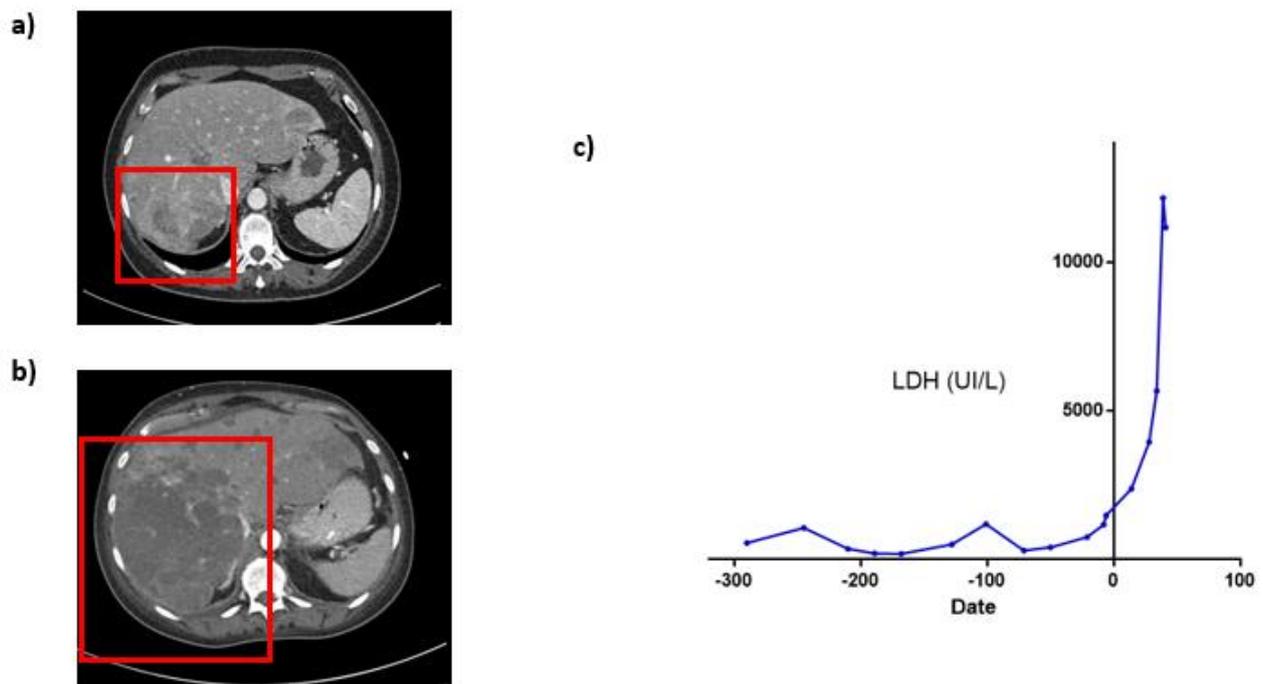


Figure 8 : Evolution scannographique d'une patiente sous pembrolizumab et présentant un tableau d'hyperprogression. a) Scanner abdominal initial b) Scanner à un peu plus d'un mois après le début du traitement par pembrolizumab et 7 jours avant son décès c) Evolution du taux de LDH en fonction du temps (abscisses négatives = sous traitement antérieur, abscisses positives = sous pembrolizumab).

Caractéristiques cliniques des 3 types de réponse au pembrolizumab :

Les paramètres anatomo-cliniques des tumeurs mammaires au diagnostic ont été comparés en fonction des réponses. Toutes les tumeurs avaient des profils agressifs avec des index de prolifération élevé, un envahissement ganglionnaire et un grade histologique élevé au diagnostic. Toutes les patientes ont reçu de la chimiothérapie pour la prise en charge de leur maladie au stade initial que cela soit en néo-adjuvant ou en adjuvant. Les patientes avec « hyper-progression » étaient plus jeunes et comprennent 2 patientes diagnostiquées dans la trentaine. Une mutation germinale de BRCA 1 est retrouvée chez une répondeuse exceptionnelle et chez une patiente avec « hyper-progression ». Le délai entre la prise en charge initiale locale et la première récurrence loco-régionale ou

métastatique est similaire quel que soit le type de réponse (table 2). Cependant, les patientes avec « hyper-progression » présentent avant de débiter le traitement par pembrolizumab, une maladie plus symptomatique et des sites métastatiques plus nombreux. On observe une nette et rapide dégradation clinique des patientes avec «hyper-progresseuses » sous pembrolizumab avec un PS qui passe de 0 ou 1 à 5 (décès) se traduisant par une survie nettement diminuée (42 jours en moyenne chez les patientes avec « hyper-progression » contre 342 jours chez les patientes avec non-réponse) (Table 2 et figure 10d). À l’opposé, les patientes répondeuses exceptionnelles ont une plus longue histoire de la maladie métastatique et qui est moins émaillée d’épisodes cliniques symptomatiques (Table 2 et figure 10b). La réponse au pembrolizumab est rapide et prolongée avec une patiente en réponse complète après 39 semaines et une patiente en réponse partielle dès la 7^{ème} semaine de traitement. À noter que ces patientes ont développé des évènements secondaires auto-immuns. Pour l’une, il s’agit d’une pneumopathie à type d’opacités basales droites qui a conduit à l’arrêt définitif du traitement. L’examen histologique du liquide broncho-alvéolaire montre une hyperlymphocytose sans cellule néoplasique. L’examen anatomo-pathologique de la biopsie pulmonaire montre de la bronchiolite oblitérante. Il est donc conclu à une pneumopathie auto-immune toxique secondaire au pembrolizumab. La 2^{ème} patiente a développé une méningite lymphocytaire aseptique se traduisant par des troubles de la vision transitoires qui n’ont pas nécessité l’arrêt du pembrolizumab. Aucun effet secondaire auto-immun n’est décrit pour les patientes hyperprogresseuses ni pour les non-répondeuses (Table 2 et Figures 9 et 10).

	Ensemble	ER	HP	NR
Nb	11	2	6	3
Antécédents familiaux néoplasiques évocateurs	6 (54,5%)	1(50%)	4(67%)	1(33%)
Mutations germinales BRCA 1 et 2	3(37%)	1(50%)	2(33%)	0
Cancer primitif				
Age au diagnostic	50 (20-71)	47,5 (47-48)	45(29-58)	62(50-71)
Taille (mm)	40 (22-74)	43 (35-50)	30 (20-40)	60 (50-74)
Grade histologique ²				
2	3(30%)	1(50%)	2(33%)	0%
3	7(70%)	1(50%)	4(66%)	3(100%)
Atteinte ganglionnaire*	10(91%)	2(100%)	5(83%)	3(100%)
Ki 67 moyen	65% (20-95)	80%(80-80)	59% (20-95)	65%(50-80)
Chimiothérapie néoadjuvante	9(82%)	2(100%)	5(83%)	2(66%)
Récidive locale ou métastatique				
KEYNOTE-012	6	2	2	2
KEYNOTE-086	5	0	4	1
Âge	54(31-73)	55(53-56)	48(31-60)	65(54-73)
Délai moyen à la récidive (mois)	39 (9-144)	41 (24-59)	26 (9-44)	63 (16-144)
Nb de sites métastatique				
≤2	5(45%)	2(100%)	1(17%)	2(66%)
>2	6(55%)	0	5(83%)	1(33%)
Nb de lignes antérieures	4 (2-9)	7 (5-9)	4,1 (2-8)	3,3 (2-4)
Chimiothérapie antérieure	11(100%)	2(100%)	6(100%)	3(100%)
Thérapie ciblée antérieure	6(55%)	2(100%)	3(50%)	1(33%)
Radiothérapie pour lésion(s) métastatique(s)	3(27%)	1(50%)	2(33%)	0
Durée de la maladie métastatique avant pembrolizumab (en mois)	24(5-53)	45(37-53)	16,5(5-30)	24(16-33)
Présence de symptômes cliniques	6(55%)	1 (50%)	4 (67%)	1 (33%)
Performans status				
0	3(27%)	0	3(50%)	0
1	8(72%)	2(100%)	3(50%)	3 (100%)
Survenue d'effets secondaires de grade élevé (≥3)	2(18%)	2(100%)	0	0
Délai entre la première injection et le décès (jours) :		NA	42 (15-99)	352 (149-566)

Table 2 : Caractéristiques anatomo-cliniques des patientes en fonction de leur réponse au pembrolizumab: NR = non répondeuse / HP = Hyperprogresseuses / RE = répondeuses exceptionnelles

a)



b)



LCR

ASP	Limpide
RBC	0
LCR Cren	0
WBC	+ 9.5
PMN	0
LYMPH	92
MONO	0
EOS	0
BASO	0
MACRO	0
NEO	ABSENCE
GLU-LCR	62
PT-LCR	0.323
LACT-LCR	16

Figure 9 : Toxicités immunologiques des patientes répondeuses exceptionnelles. a) Patiente 1 : pneumopathie interstitielle b) Patiente 2 : méningite lymphocytaire aseptique.

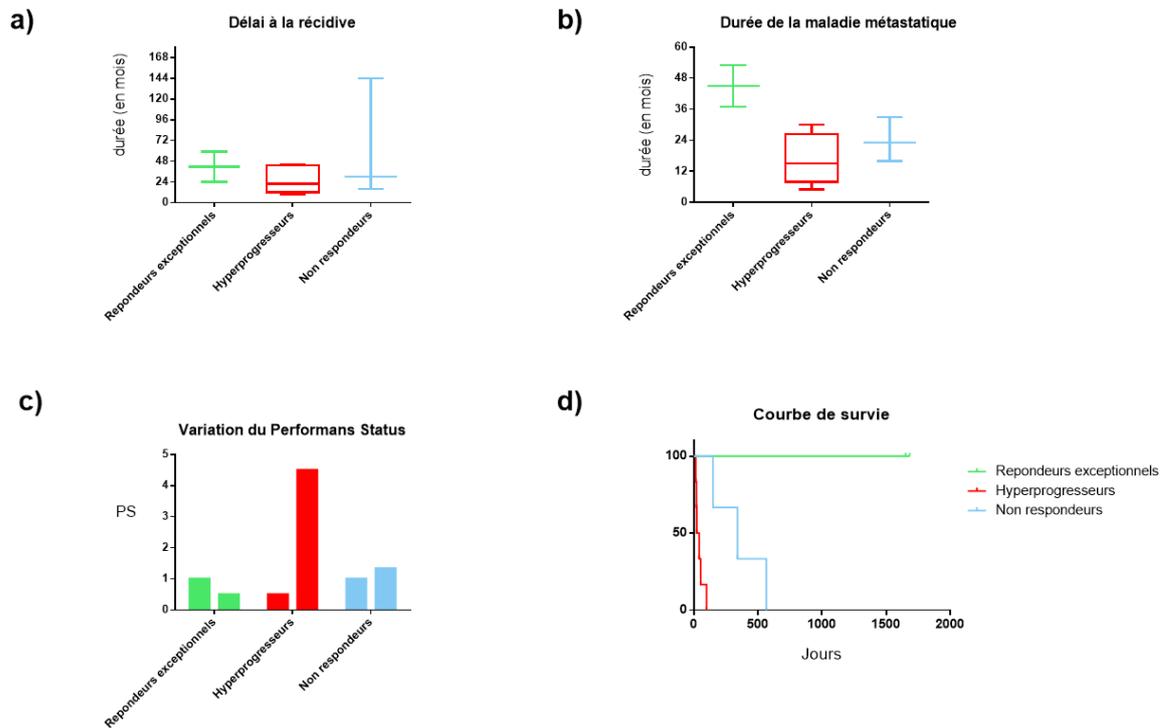


Figure 10 : Caractéristiques cliniques des patientes en fonction de leur réponse au pembrolizumab. a) Délai entre la prise en charge initiale et la récidence en mois b) Durée en mois de la maladie métastatique avant le début du traitement par pembrolizumab c) Variation du status de performance (PS) d) Courbe de survie en jours.

Caractéristiques biologiques des 3 types de réponses au pembrolizumab :

Les résultats des bilans sanguins avant et pendant traitement ont été revus et comparés entre les patientes. Les types de réponse se différencient par leur taux initial (baseline) de LDH qui est nettement plus élevé pour le groupe avec « hyper-progression » (table 3 & figure 11a). Il est par ailleurs observé une forte augmentation du taux de LDH sous pembrolizumab traduisant une majoration de la charge tumorale dans ce groupe de patientes lors du traitement. Le taux de neutrophiles/lymphocytes, est aussi plus élevé dans le groupe hyper-progresseur (figure 11b). A l'inverse, les répondeuses exceptionnelles présentent un rapport neutrophiles/lymphocytes bas et des LDH dans les normes avant de débiter le traitement. Il n'a pas été retrouvé de différence entre les taux initiaux d'albumine et de protéine C réactive (CRP). Cependant, pour les patientes « hyper-progresseuses » qui présentaient une atteinte métastatique hépatique, nous avons noté une dégradation majeure et rapide de leur fonction hépatique (majoration des transaminases associée dans la majorité des cas à une cholestase (4 patientes/5) et pour une patiente à un effondrement de son taux de prothrombine illustrant la progression de la maladie qui sera confirmée par l'analyse radiologique et par l'autopsie.

	Ensemble	ER	HP	NR
Ratio Neutrophile/Lymphocytes	5,2 (1,5-12,5)	2,1 (1,5-2,7)	7,4 (5-12,5)	2,8 (2,3-3,7)
< 4	5 (45%)	2 (100%)	0	3 (100%)
≥ 4	6 (55%)	0	6 (100%)	0
LDH (UI/L)	429 (181-1480)	233 (206-261)	607 (142-1480)	205 (182-241)
Albumine (g/L)	42 (31-49)	46,5 (46-47)	40,2 (31-45)	43,3 (38-49)
CRP (mg/L)	12,3 (0,8-183,5)	1,2 (0,8-1,6)	27,3 (1,9-183,5)	6,4 (3,3-8,2)

Table 3 : Caractéristiques biologiques initiales des patientes en fonction de leur réponse au pembrolizumab : NR = non répondeuse / HP = Hyperprogresseuses / RE = répondeuses exceptionnelles Ratio neutrophiles/lymphocytes : meilleur pronostic si ≥ 4 (46)

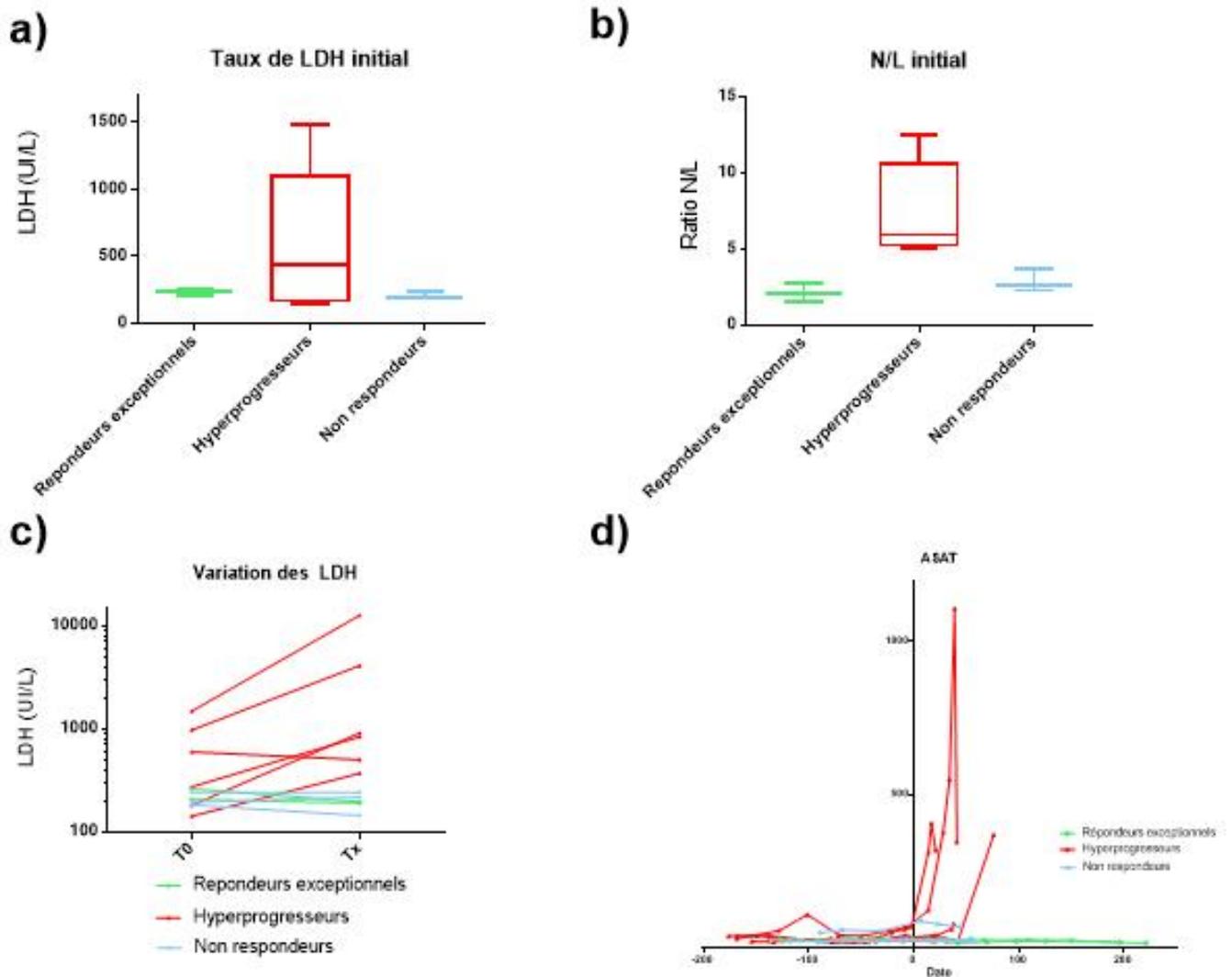


Figure 11 : Caractéristiques biologiques des patientes en fonction de leur réponse au pembrolizumab. a) Taux de LDH avant le début du traitement b) Rapport neutrophiles/lymphocytes avant le début du traitement c) Variation du taux de LDH au temps T0, début du traitement et au temps Tx (décès/progression/date contemporaine), fin de l'étude (décès, progression, dernière injection) d) variation des ASAT (transaminases) en fonction du temps. T=0 ⇔ date de la 1^{ère} injection de pembrolizumab

Évaluation des lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs):

L'analyse des TILs réalisée sur lames colorées par H&E ne démontre pas de différence entre le niveau d'infiltration lymphocytaire entre le primitif et les métastases que cela soit pour les iTILs ou les sTILs. On observe que les tumeurs initialement dépourvues de sTILs au niveau de la tumeur primaire ne présentent pas non plus de sTILs à l'état métastatique.

En revanche, les tumeurs initialement plus infiltrées en sTILs semblent avoir moins de sTILs dans leurs lésions métastatiques comparées aux lésions primaires. Au niveau des autopsies, les deux patientes présentant des lésions tumorales très pauvres en sTILs.

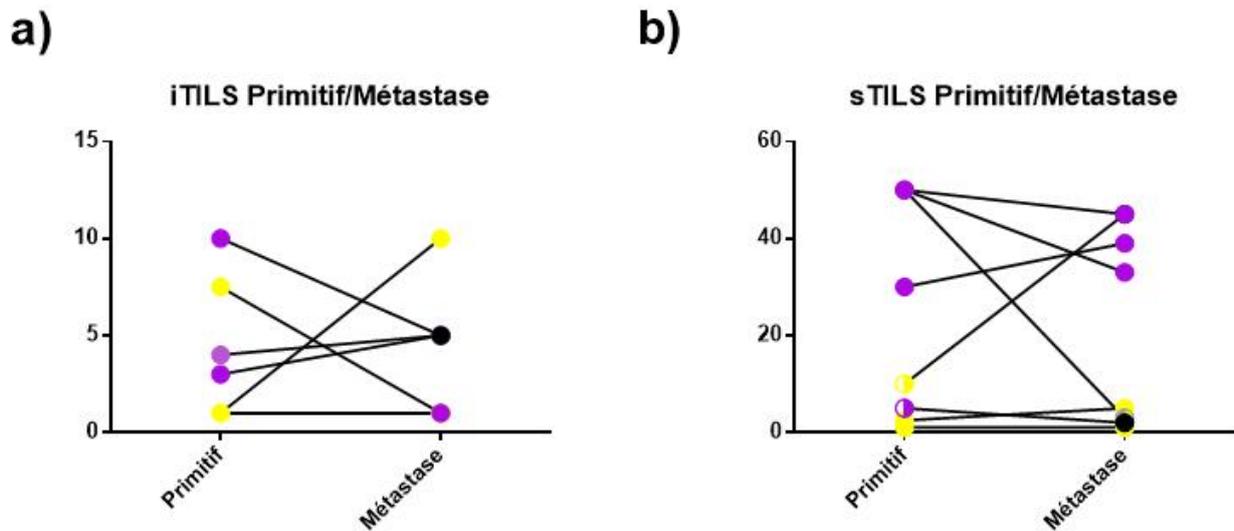


Figure 12 : Comparaison de l'infiltration lymphocytaire au niveau des tumeurs mammaires primaires et des lésions métastatiques secondaires pour les TILs intra-tumoraux (a) et les TILs stromaux (b). Les valeurs en jaune correspondent à des échantillons prélevés après chimiothérapie néo-adjuvante ; les valeurs en violet correspondent à des échantillons prélevés avant chimiothérapie adjuvante.

Nous avons ensuite analysé le taux de TILs en fonction de la réponse au traitement. Celui-ci ne diffère pas en fonction des réponses au pembrolizumab et ceci même en comparant les patientes répondeuses exceptionnelles versus l'ensemble des non répondeuses au traitement qu'elles soient non répondeuses ou « hyper-progresseuses » (Figure 13).

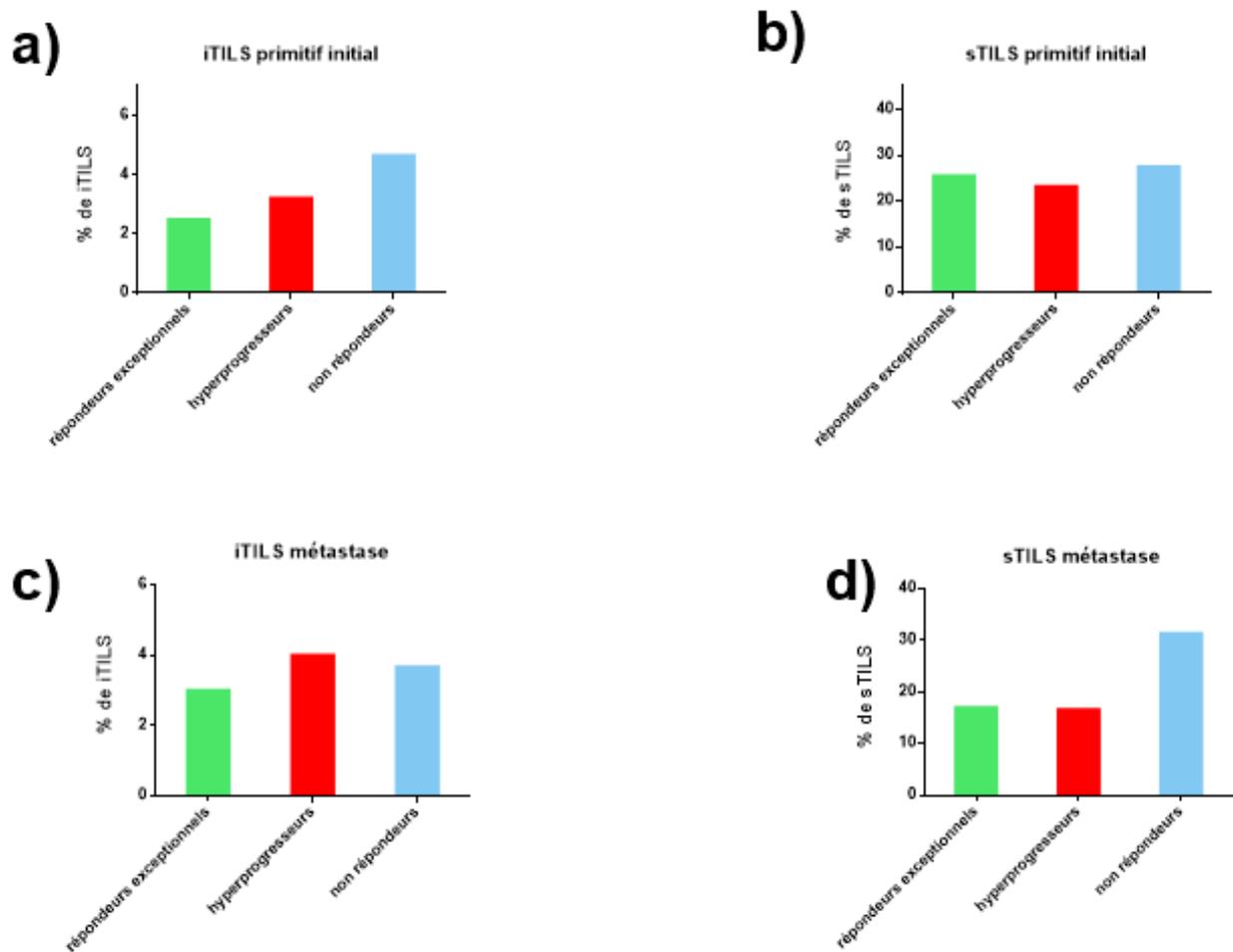


Figure 13: Comparaison de l'infiltration lymphocytaire tumorale en fonction des réponses au pembrolizumab au niveau des tumeurs mammaires primaires (a&b) et des lésions secondaires métastatiques (c&d) pour les TILs intra-tumoraux (a&c) et pour les TILs stromaux (c&d).

La configuration spatiale de cet infiltrat lymphocytaire a également été analysée. La moitié des tumeurs primaires ont été étiquetées de « tumeur froide » et conservaient une tumeur froide au niveau des métastases. Il n'y avait pas de différence entre les tumeurs primaires selon le type de réponse au traitement. Il est à noter qu'une des deux patientes qui a exceptionnellement bien répondu au pembrolizumab présentait une tumeur froide.

	Ensemble	ER	HP	NR
Tumeur primaire				
Nb	10	2	5	3
Froide	6(60%)	1(50%)	3(60%)	2 (66%)
Totalement inflammée	2(20%)		1(20%)	1(33%)
Restreintes au stroma	1(10%)		1(20%)	0
Non évaluable	1(10%)	1(50%)		
Métastase				
Nb	8	2	3	3
Froide	4(50%)	1(50%)	2(66%)	1(33%)
Totalement inflammée	1(12,5%)	0	1(33%)	0
Restreintes au stroma	3(37,5%)	1(50%)	0	2(66%)

Table 4 : Configuration spatiale de l'infiltrat lymphocytaire tumoral au niveau des tumeurs mammaires primaires et des lésions métastatiques secondaires en fonction de la réponse au pembrolizumab.

Évaluation radiologique de l'évolution tumorale en fonction de la réponse au pembrolizumab :

Nous avons analysé de manière exhaustive les examens d'imagerie des 2 patientes répondeuses exceptionnelles, de 4 patientes « hyper-progresseuses » et de 2 non répondeuses. Notre analyse démontre que la charge tumorale initiale est plus importante dans le groupe des « hyper-progresseurs » comparé aux répondeuses exceptionnelles et non-répondeuses (Figure 14a). Le temps de doublement volumique sous traitement de référence est plus long pour les patientes répondeuses exceptionnelles marquant une maladie à croissance plus lente initialement que chez les patientes non répondeuses classiques et avec « hyper-progression » (Figure 14b). Sous traitement par pembrolizumab, le temps de doublement volumique est plus court pour les « hyper-progresseurs » que pour les non répondeurs (Figure 14b). L'analyse des TGR permet d'isoler 2 sous-groupes de patientes « hyper-progresseurs »; les patientes dont la croissance tumorale était déjà rapide sous traitement de référence et qui évolue rapidement sous pembrolizumab mais dont le rapport TGR EXP/TGR REF n'est pas

supérieur à 2 et les patientes dont la croissance tumorale sous pembrolizumab est plus de deux fois plus rapide (Figure 14c).

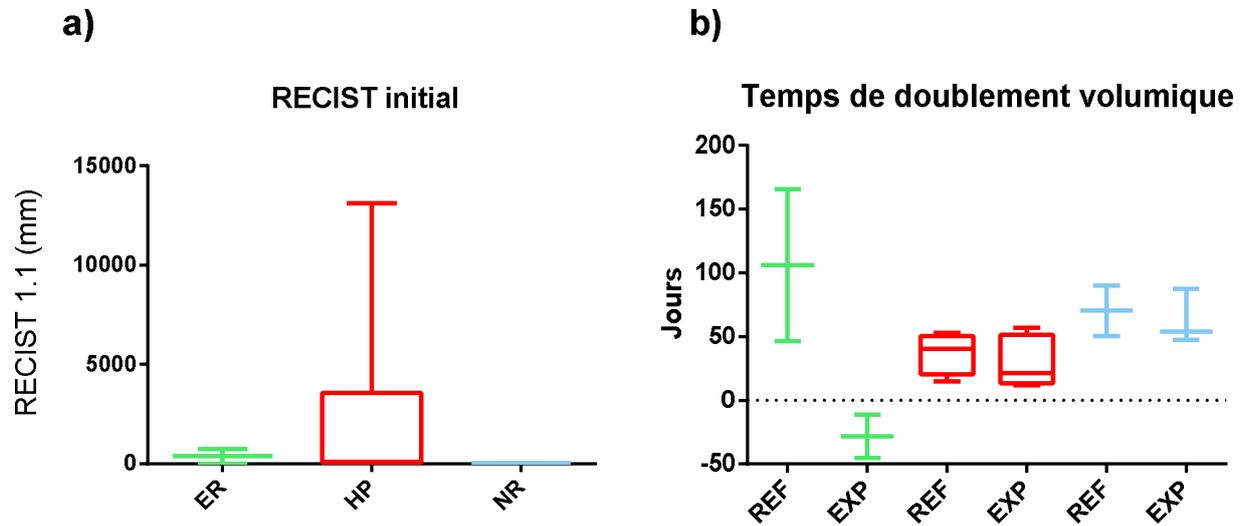


Figure 14 : Caractéristiques radiologiques des patientes en fonction de leur réponse au pembrolizumab. a) Charge tumorale en mesure RECIST 1.1 (mm) b) Temps de doublement volumique sous traitement immédiatement antérieur et sous pembrolizumab

c)

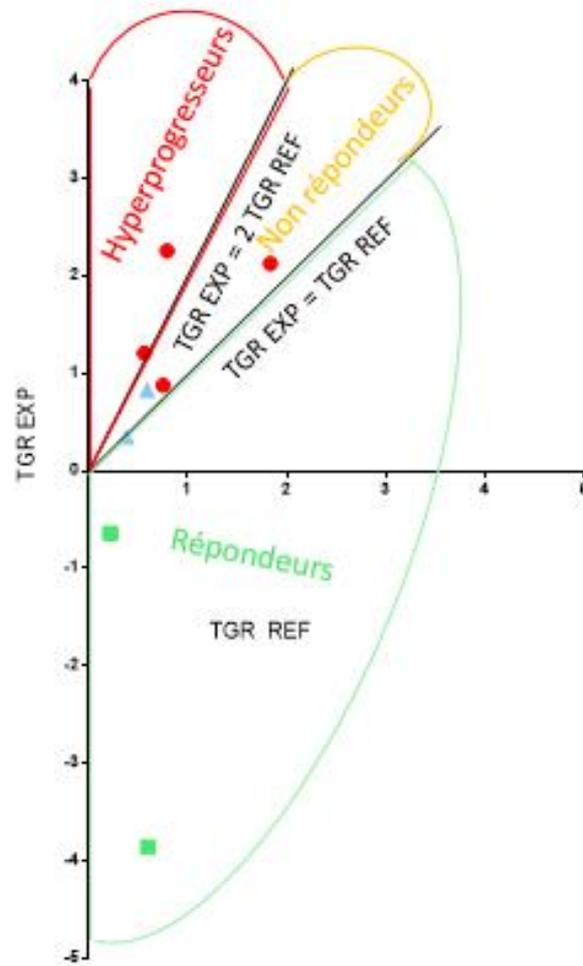


Figure 14 : c) Rapport TGR REF/TGR EXP des répondeuses exceptionnelles (point verts), des hyperprogresseuses (points rouges) et des non répondeuses (points bleus).

Discussion

Notre projet étudie de manière approfondie une série de patientes atteintes d'un TNBC métastatique et traitées par pembrolizumab dans le cadre de deux études cliniques, afin de caractériser le profil clinique, biologique et radiologique des répondeuses et non répondeuses au traitement. En effet, malgré le faible taux de réponse à l'immunothérapie, certaines patientes en bénéficient de manière spectaculaire. Il est donc primordial d'identifier des biomarqueurs permettant de distinguer ce sous-groupe de patientes.

Notre analyse a permis de distinguer 3 types de profil de réponse au pembrolizumab. Les 2 patientes qui ont répondu de manière exceptionnelle sont des patientes qui, avant traitement par pembrolizumab étaient atteintes de maladie moins agressive, peu symptomatique et d'évolution plus lente que les patientes n'ayant pas répondu. Elles présentaient un taux de LDH plus bas et un plus faible rapport neutrophiles/lymphocytes qui sont deux éléments identifiés comme marqueurs biologiques associés à une réponse au traitement et à bon pronostic dans le cadre du traitement par immunothérapie (38,39). Ces deux patientes ont présenté des effets secondaires auto-immuns de grade élevés qui ont mené chez la patiente en réponse complète à l'interruption du traitement sans récurrence de la maladie pendant plusieurs années. La survenue de ce type d'effets secondaires a été associée à une meilleure réponse aux immunothérapies dans le mélanome (47,48).

Les patientes dites « hyper-progressives » sont des patientes décédées rapidement après le début du traitement par pembrolizumab. La revue des dossiers cliniques de ces patientes a permis de constater qu'elles présentent initialement une maladie plus symptomatique et plus agressive avec une volumineuse charge tumorale et avec des échecs rapides des traitements antérieurs. Le temps de doublement volumique des

lésions cibles à l'imagerie est déjà rapide sous traitement antérieur, et leur niveau de LDH ainsi que le rapport neutrophile/lymphocytes évoquent une maladie en forte progression avant l'inclusion dans l'étude. Malgré une maladie qui, initialement, semble donc plus active, leur état général est conservé et la présentation initiale de leur maladie est jugée comme suffisamment compatible pour être incluse dans ces études de phases précoces. L'état clinique de ces patientes se dégrade très rapidement pour amener à un décès en moyenne dans les 6 semaines suivant la première administration. Ces patientes n'ont pas présenté d'effet secondaire auto-immun mais il est probable qu'elles soient décédées avant leur éventuelle survenue. En effet, le délai de survenue d'un effet secondaire auto-immun est d'au moins 5 semaines (48). Les 2 étiologies à évoquer pour expliquer cette évolution péjorative et fulgurante peuvent être l'évolution naturelle de la maladie non contrôlée par le pembrolizumab ou une « hyper-progression » liée au pembrolizumab comme décrit dans plusieurs publications récentes. Ce phénomène d'« hyper-progression » imputé à l'immunothérapie atteint 9 à 30 % de patients (39). Cependant, « l'hyperprogression » est encore mal définie. En effet, les critères pour définir cette « hyperprogression » sont très variables d'une étude à l'autre et reposent sur des données cliniques, radiologiques ou mixtes (Table 5) parfois contestables.

Etude	Définition de l'HP	% d'HP	% d'HP selon tumeur	Facteurs d'HP
Champiat et al, 2017	<ul style="list-style-type: none"> Progression selon RECIST à la 1^{ère} évaluation TGR ≥ 2 	9% (12/131)	Mélanome (9%; 4/45) Carcinome urothéliale (25%; 2/8) CCR (12%; 1/8) Lymphome (14%; 1/7) Carcinome ovarien (40%; 2/5) Cholangiocarcinome (50%; 1/2) Mélanome de l'uvée (50%; 1/2)	<ul style="list-style-type: none"> Âge ≥ 65 ans
Kato et al, 2017	<ul style="list-style-type: none"> Délai à l'échec du traitement < 2 mois Progression tumorale > 50% par rapport à avant l'immunothérapie Accélération du rythme de progression > 2 x 	6% (6/102)	NSCLC (8%; 3/38) Carcinome urothéliale (ND; 1/ND) TNBC (ND/1/ND) Carcinome endométriale (ND; 1/ND)	<ul style="list-style-type: none"> Amplification de MDM2 Altération de l'EGFR
Saâda-Bouzib et al, 2017	<ul style="list-style-type: none"> TGK ≥ 2 	29% (10/34)	HNSCC	<ul style="list-style-type: none"> Récidive locale en zone irradiée
Ferrara et al, 2018	<ul style="list-style-type: none"> Progression selon RECIST à la 1^{ère} évaluation Δ TGR > 1.5 	14% (56/406)	NSCLC	<ul style="list-style-type: none"> Nb de site métastatiques > 2
Kanazu et al, 2018	<ul style="list-style-type: none"> Dégradation rapide de l'état clinique après le 1^{er} cycle 	6% (5/87) Pseudo-P: 3/5 HP : 2/5	NSCLC	
Sasaki et al, 2019	<ul style="list-style-type: none"> TGK ≥ 2 	21% (13/62)	Cancer gastrique	<ul style="list-style-type: none"> PS 1 à 2 Importante somme des diamètres des lésions mesurées au baseline
Lo Russo et al, 2019	<ul style="list-style-type: none"> Délai à l'échec du traitement < 2 mois Progression tumorale > 50% de la somme des lésions cibles Apparition d'au moins 2 nouvelles lésions cibles dans un organe déjà atteint Envahissement d'un nouvel organe Détérioration clinique avec PS ≥ 2 durant les 2 premiers mois 	25.7% (152)	NSCLC	TILs infiltrés par macrophage de type 2 CD163 +, CD33 +, PD-L1+

Table 5: Etudes cliniques définissant l'hyperprogression (HP). **TGK:** Tumor Growth Kinetics; **TGR:** Tumor Growth Rate. NSCLC : carcinome pulmonaire non à petite cellule. TNBC : Cancer du sein triple négatif. CCR : carcinome colorectal. HNSCC : carcinome épidermoïde de la tête et du cou **adapté en partie de Champiat et al, 2018** (49) .

La plupart des études analysent la croissance tumorale mais celle-ci peut être déterminée selon différentes méthodes. Dans certaines études, cette croissance tumorale est calculée à partir de la variation 2D des diamètres (Tumor Growth Kinetics TGK) et sans intégrer la croissance exponentielle naturelle d'une tumeur. Ce qui amène à surestimer le nombre de cas d'hyperprogression par rapport au taux évalué en utilisant le TGR.

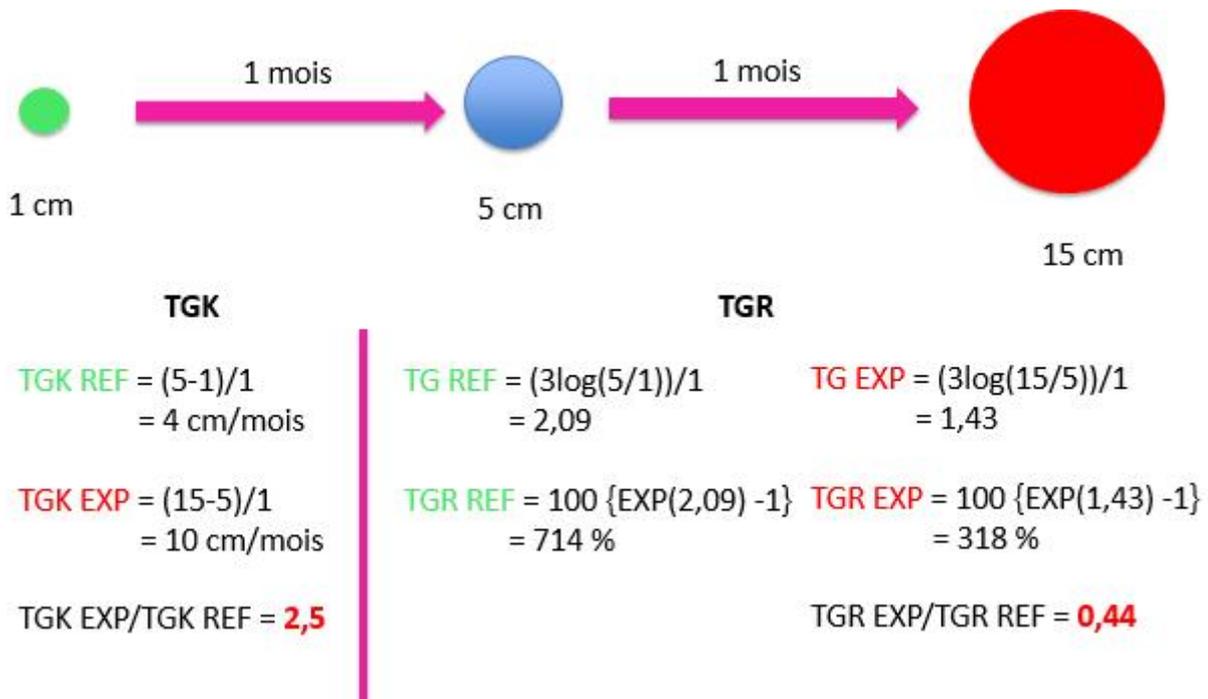


Figure 15 : Comparaison entre le Tumor Growth Kinetics (TGK) et le Tumor Growth Rate (TGR) dans un exemple simple montrant la surévaluation du nombre d'hyperprogression par le TGK.

De plus l'ensemble des études publiées décrivant ce phénomène d'hyperprogression sont des analyses rétrospectives dont l'interprétation est délicate.

Certaines études cliniques de phase III (CHECKMATE 057(50) / CHECKMATE 141 (51) / KEYNOTE 045(52) / IMvigor211(53) / CHECKMATE 227 (31)) rapportent une plus grande mortalité durant les 3 premiers mois chez les patients traités par immunothérapie par rapport à ceux traités par une chimiothérapie cytotoxique. Ceci se traduit par un croisement des courbes de survie dans les premiers mois suivant l'instauration du traitement. Champiat et al (49), interprètent ce manque de bénéfice initial par l'existence de ce sous-groupe d'« hyperprogresseurs » pour qui le traitement est précocement délétère. On y retrouve par ailleurs le sous-groupe des EGFR mutés dont la mutation serait un facteur de risque d'« hyperprogression » (54). Les études cliniques n'ont pas rapporté de relation significative entre ce phénomène d' « hyperprogression » avec l'expression de PD-L1 au niveau tumoral ni avec un mauvais état général ou avec une

maladie plus avancée. Le nombre et les types de traitements antérieurs n'influent pas sur l'incidence de l'« hyperprogression ». Aucun marqueur biologique n'a été mis en évidence comme facteur de risque que cela soit le taux de lymphocytes, d'albumine, de fibrinogène ou de LDH. Seul un âge plus avancé, un nombre de sites métastatiques supérieur à 2, une récurrence en zone irradiée ainsi qu'une amplification de la famille MDM2 et des aberrations d'EGFR ont montré un lien significatif avec l'« hyperprogression » (42,55–58). Dans les cas définis comme « hyper-progressseurs » dans notre étude, le taux de croissance tumorale est élevé avant traitement et augmente sous pembrolizumab en dépassant de 2 fois le TGR de référence comme défini par Champiat *et al.* pour 2 des 5 patientes. Les mécanismes impliqués dans ce phénomène d'hyperprogression ne sont pas encore élucidés même si des hypothèses biologiques intéressantes sont évoquées. Champiat *et al.*, 2018 (49) décrivent 5 mécanismes possibles ;

- le blocage de l'axe PD-1 / PD-L1 pourrait stimuler les cellules T régulatrices (Treg), conduisant à un microenvironnement tumoral immunosuppresseur. En effet, les points de régulation PD-1 et CTLA-4 sont hautement et sélectivement surexprimés à la surface des Treg.
- le blocage de PD-1 / PD-L1 pourrait entraîner l'épuisement des cellules T compensatrices. Par exemple, la présence de TIM3 (inhibiteur des cellules T) est significativement corrélée à la durée de blocage de PD-1.
- l'inhibition de l'interaction de PD-1/PD-L1 pourrait modifier la polarisation de sous-type de cellules immunosuppressives tels que les macrophages M2, les cellules dendritiques ou les cellules suppressives dérivées de la moelle entraînant la sécrétion de cytokines immunosuppressives.

- le blocage de PD-1 / PD-L1 pourrait déclencher une réponse inflammatoire aberrante induite par les cellules TH1 et TH17 qui engendrerait un échappement tumoral et accélérerait la croissance tumorale
- le blocage de PD-1 / PD-L1 pourrait affecter directement les cellules tumorales en permettant l'activation des voies de signalisation oncogénique (MYC, MDM2, EGFR...).

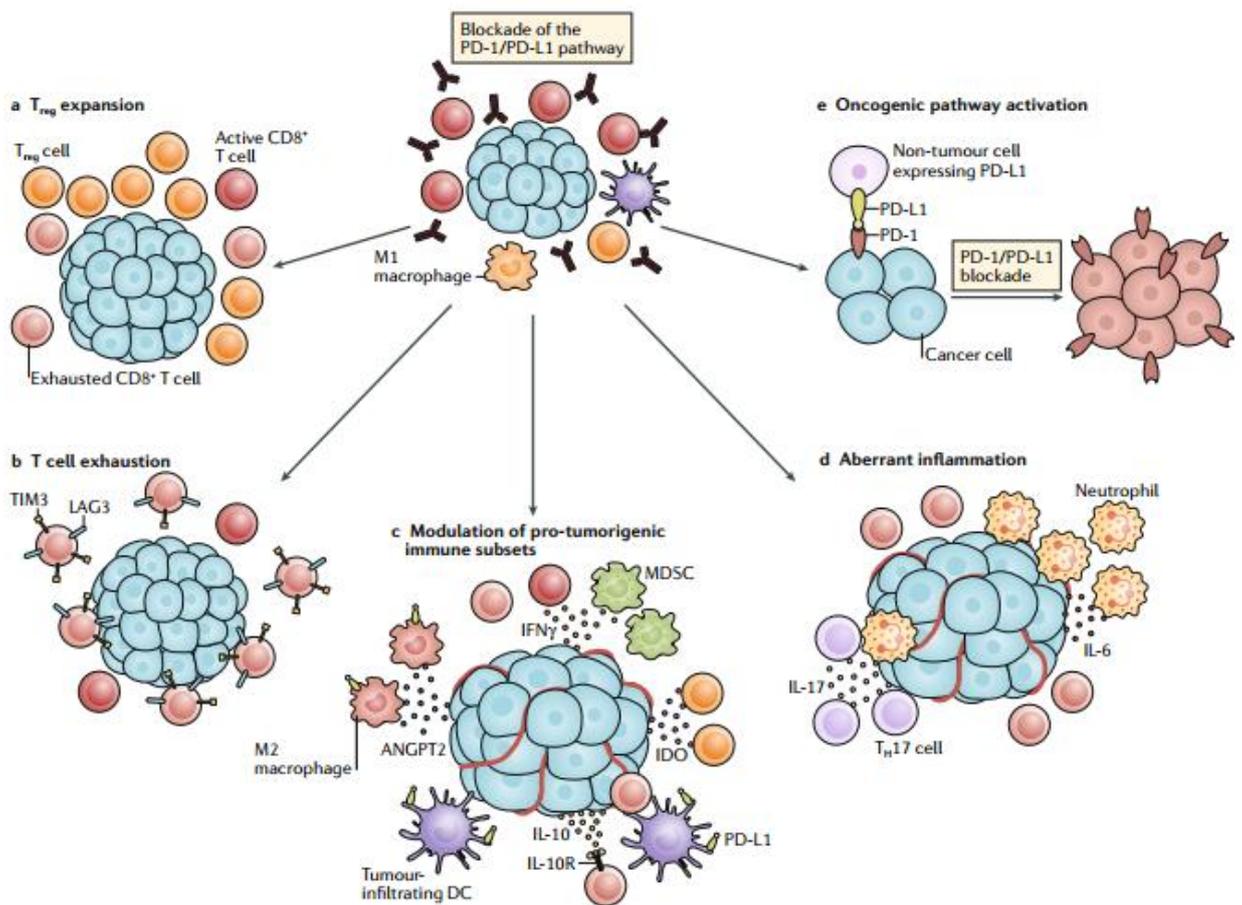


Figure 16 : Hypothèses biologiques de l'« hyperprogression rapporté aux inhibiteurs de points de contrôle immuns. **Adapté de Champiat et al, 2018** (49)

Dans notre série, l'analyse des lésions d'autopsie n'a pas montré d'infiltration lymphocytaire importante écartant l'hypothèse d'une exacerbation massive et brutale de la réponse immune de type de « tempête cytokinique » (59). Dans les cas décrits dans ce rapport, on constate une maladie qui devient trop importante entraînant une défaillance

d'organes et un décès rapide évoquant la progression de la maladie non contrôlée par un traitement. En tenant compte de la croissance tumorale sous traitement antérieur et de la présence caractéristiques clinico-biologiques évocateurs de ce sous-type de patiente, un traitement par immunothérapie devrait être évité ou combiné avec un traitement cytotoxique. De plus, les agents de chimiothérapie sont connus pour induire la mort immunogène et pourraient donc avoir un effet synergique avec les traitements d'immunothérapie (60). Différentes stratégies combinant la chimiothérapie avec des inhibiteurs de points de contrôle sont à l'étude. Ce traitement de chimiothérapie pourrait également transformer des tumeurs dites « froides » en tumeurs « chaudes » en libérant des néo-antigènes qui pourront être reconnus par les cellules immunes et en induisant une réponse immune en stimulant différents effecteurs de celle-ci (61). Dans le cancer du sein TNBC, la combinaison de l'immunothérapie avec la chimiothérapie est une approche prometteuse comme démontré par l'étude de phase III IMpassion (23). Certains articles ont créés des hypothèses d'algorithmes de combinaisons de traitement en fonction des caractéristiques de la tumeur : « froide »/ « chaude » ; PD-L1 positif/négatif, perte du complexe d'histo-compatibilité, haute charge mutationnelle etc (62).

Différents biomarqueurs ont été associées à une meilleure réponse aux immunothérapies (TILs, expression du PD-L1 et charge mutationnelle). Dans le cancer du sein métastatique, la présence de TILs dans les biopsies de métastases prélevées avant le traitement est associée à un plus haut taux de réponses dans deux études cliniques (35,36). Dans notre étude, nous n'avons pas observé un taux plus élevé de TILs dans les prélèvements tumoraux des 2 patientes ayant présentant l'excellente réponse au traitement. De même une de ces deux patientes présentait des lésions tumorales (cancer primitif et métastases) dépourvues de lymphocytes ce qui pourrait suggérer qu'une tumeur froide n'est pas exempte de répondre à l'immunothérapie. Le biomarqueur « TILs »

semble donc insuffisant pour sélectionner adéquatement les patientes susceptibles de tirer un bénéfice des traitements qui visent à amplifier une réponse immune.

Nous avons observé que les tumeurs qui présentent peu d'infiltration lymphocytaire au stade initial conservent un faible taux de sTILs à l'état métastatique. En revanche, comme décrit dans la littérature, les tumeurs présentant une activité immune initiale plus importante perdent leur infiltrat immun lors du processus de métastatisation (63). Cette constatation est faite aussi pour la configuration spatiale de l'infiltrat lymphocytaire tumoral. Les patientes analysées dans ce projet sont des patientes ayant une longue histoire de maladie métastatique et sont incluses dans ces deux études cliniques de phases précoces après échec de plusieurs lignes de traitement. Il s'agit donc possiblement de tumeurs qui sous la pression des nombreux traitements antérieurs pourraient avoir sélectionné des clones tumoraux ou un microenvironnement tumoral « résistants » (appauvrissement ou évolution des cellules immunes vers un profil immunosuppresseur) rejoignant les idées d'une réponse immune adaptative et d'une meilleure efficacité de l'immunothérapie en 1^{ère} ligne.

La réponse immune contre le cancer du sein pourrait être plus « efficace » à un stade moins avancé avec une charge tumorale moins importante comme souligné par la valeur pronostic des TILs (35,36) et des signatures immunes dans le cancer du sein primaire (64). Ces tumeurs fortement infiltrées en cellules immunes et exprimant les signatures géniques immunes sont donc des tumeurs qui vont bien répondre aux traitements et ne récidiveront pas sous forme de métastases. On peut s'interroger si l'introduction de traitements immuns à un stade plus précoce de la maladie pourrait augmenter cette protection immune contre la récurrence. Cette question est à l'étude dans différents essais cliniques qui évaluent la combinaison de l'immunothérapie par inhibiteurs de point de contrôle avec la chimiothérapie néoadjuvante et adjuvante (NCT01042379 ;

NCT02622074). Et très récemment, l'atézolizumab en monothérapie (Phase Ib) a montré une meilleure efficacité en 1^{ère} ligne qu'en 2^è ligne et plus chez les patientes TNBC métastatiques (réponse objective 24% vs 6%) (65).

Notre étude a certaines limites d'une part par son petit nombre de cas étudiés et son caractère rétrospectif. Ce qui illustre la nécessité de réaliser des études cliniques prospectives associées à une recherche translationnelle exhaustive comprenant des prélèvements sanguins et en échantillons de tissus tumoraux avant et pendant le traitement. Même si l'obligation de réaliser des prélèvements supplémentaires invasifs peut fortement limiter l'inclusion dans les protocoles d'études cliniques, il s'agit de l'unique moyen d'obtenir une biobanque de tissus adéquats pour une recherche translationnelle de qualité dont les bénéfices pourront découler sur des avancées cliniques. Nos observations sont aussi limitées par l'hétérogénéité des tableaux cliniques et des échantillons récoltés. Les maladies tumorales n'avaient pas subi la même histoire thérapeutique engendrant une sélection clonale tumorale et immunitaire différente. Certains échantillons n'ont pas pu être analysés de par leur absence et/ou leur détérioration. Dans certains prélèvements ganglionnaires lymphatiques, l'absence de stroma desmoplastique n'a pas permis l'évaluation du paramètre « TIL ».

Ce projet sera poursuivi par un séquençage l'ARN et de l'exome complet à partir des blocs des tumeurs primitives, des lésions métastatiques et des lésions d'autopsie collectés dans le cadre de ce travail de thèse. L'analyse bio-informatique consistera à la recherche de signatures immunes liées aux différents types de tumeurs et à leurs microenvironnements associés. La recherche portera sur l'identification des populations cellulaires pro et anti-inflammatoires aux différents temps d'évolution de la maladie. Une analyse génomique approfondie évaluant les mutations, les réarrangements, le nombre de copies, la présence

de néo-antigènes, la perte d'HLA sera réalisée sur le séquençage de l'exome afin de caractériser au niveau moléculaire les réponses immunes anti-tumorales de ces patientes.

Conclusion

L'immunothérapie anti-tumorale est une approche prometteuse dans le cancer du sein triple négatif. Il est essentiel de mieux comprendre les mécanismes liés la réponse immune afin d'optimiser cette stratégie thérapeutique et de sélectionner les patients qui pourraient en tirer un bénéfice. Notre travail a permis de dresser un profil clinique permettant d'identifier différents types de réponse au traitement par pembrolizumab.

Références :

1. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 17 août 2000;406(6797):747-52.
2. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol*. févr 2011;5(1):5-23.
3. Cardoso F, Costa A, Senkus E, Aapro M, André F, Barrios CH, et al. 3rd ESO–ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 3). *Ann Oncol*. 1 janv 2017;28(1):16-33.
4. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(20):1938–1948.
5. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 août 2007;13(15 Pt 1):4429-34.
6. Rakha EA, Elsheikh SE, Aleskandarany MA, Habashi HO, Green AR, Powe DG, et al. Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 avr 2009;15(7):2302-10.
7. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*. 7 juin 2006;295(21):2492-502.
8. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-Like Breast Cancer: A Critical Review. *J Clin Oncol*. 20 mai 2008;26(15):2568-81.
9. Reis-Filho JS, Tutt ANJ. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology*. janv 2008;52(1):108-18.
10. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer*. 1 mai 2007;109(9):1721-8.
11. Couch FJ, Hart SN, Sharma P, Toland AE, Wang X, Miron P, et al. Inherited mutations in 17 breast cancer susceptibility genes among a large triple-negative breast cancer cohort unselected for family history of breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 févr 2015;33(4):304-11.
12. Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, et al. Invasive Breast Cancer Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 3 janv 2016;14(3):324-54.
13. Colleoni M, Cole BF, Viale G, Regan MM, Price KN, Maiorano E, et al. Classical cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil chemotherapy is more effective in triple-negative, node-negative breast cancer: results from two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 juin 2010;28(18):2966-73.
14. Khosravi-Shahi P, Cabezón-Gutiérrez L, Custodio-Cabello S. Metastatic triple negative breast cancer: Optimizing treatment options, new and emerging targeted therapies. *Asia Pac J Clin Oncol*. 1 févr 2018;14(1):32-9.
15. Allard B, Aspeslagh S, Garaud S, Dupont FA, Solinas C, Kok M, et al. Immuno-oncology-101: overview of major concepts and translational perspectives. *Semin Cancer Biol* [Internet]. févr 2018 [cité 20 févr 2018]; Disponible sur: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1044579X1730233X>

16. 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*. 28 juin 2012;366(26):2443-54.
17. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, Hwu W-J, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med*. 28 juin 2012;366(26):2455-65.
18. Nghiem P, Bhatia S, Lipson EJ, Sharfman WH, Kudchadkar RR, Brohl AS, et al. Durable Tumor Regression and Overall Survival in Patients With Advanced Merkel Cell Carcinoma Receiving Pembrolizumab as First-Line Therapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 6 févr 2019;JCO1801896.
19. Ansell SM. Nivolumab in the Treatment of Hodgkin Lymphoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 avr 2017;23(7):1623-6.
20. Nanda R, Chow LQM, Dees EC, Berger R, Gupta S, Geva R, et al. Pembrolizumab in Patients With Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Phase Ib KEYNOTE-012 Study. *J Clin Oncol*. 20 juill 2016;34(21):2460-7.
21. Adams S, Schmid P, Rugo HS, Winer EP, Loirat D, Awada A, et al. Phase 2 study of pembrolizumab (pembro) monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): KEYNOTE-086 cohort A. *J Clin Oncol*. 20 mai 2017;35(15_suppl):1008-1008.
22. Tolaney S, Savulsky C, Aktan G, Xing D, Almonte A, Karantza V, et al. Phase 1b/2 study to evaluate eribulin mesylate in combination with pembrolizumab in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *Eur J Cancer*. 1 févr 2017;72:S16.
23. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 29 nov 2018;379(22):2108-21.
24. Fiteni F, Bonnetain F. Surrogate end points for overall survival in breast cancer trials: A review. *Breast Edinb Scotl*. oct 2016;29:44-8.
25. ASCO 2017: I-SPY 2 Trial: Combination of Pembrolizumab Plus Standard Neoadjuvant Therapy in High-Risk Breast Cancer - The ASCO Post [Internet]. [cité 8 juin 2018]. Disponible sur: <http://www.ascopost.com/News/55733>
26. Taube JM. Unleashing the immune system: PD-1 and PD-Ls in the pre-treatment tumor microenvironment and correlation with response to PD-1/PD-L1 blockade. *Oncoimmunology*. nov 2014;3(11):e963413.
27. Mittendorf EA, Philips AV, Meric-Bernstam F, Qiao N, Wu Y, Harrington S, et al. PD-L1 expression in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol Res*. avr 2014;2(4):361-70.
28. Fusi A, Festino L, Botti G, Masucci G, Melero I, Lorigan P, et al. PD-L1 expression as a potential predictive biomarker. *Lancet Oncol*. oct 2015;16(13):1285-7.
29. Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of Inflammatory Response with B7-H1 Expression in Human Melanocytic Lesions Supports an Adaptive Resistance Mechanism of Immune Escape. *Sci Transl Med*. 28 mars 2012;4(127):127ra37-127ra37.
30. Cottrell TR, Taube JM. PD-L1 and Emerging Biomarkers in Immune Checkpoint Blockade Therapy: *Cancer J*. 2018;24(1):41-6.
31. Hellmann MD, Ciuleanu T-E, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med*. 31 mai 2018;378(22):2093-104.
32. Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive

breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 mars 2013;31(7):860-7.

33. Hida AI, Sagara Y, Yotsumoto D, Kanemitsu S, Kawano J, Baba S, et al. Prognostic and predictive impacts of tumor-infiltrating lymphocytes differ between Triple-negative and HER2-positive breast cancers treated with standard systemic therapies. *Breast Cancer Res Treat*. 2016;158:1-9.

34. Mao Y, Qu Q, Chen X, Huang O, Wu J, Shen K. The Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PloS One*. 2016;11(4):e0152500.

35. ESMO 2017: TIL Levels Signal Pembrolizumab Response in Metastatic TNBC | ESMO [Internet]. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.esmo.org/Oncology-News/TIL-Levels-Signal-Pembrolizumab-Response-in-Metastatic-TNBC>

36. SABCS 2017: Combination of Pembrolizumab and Trastuzumab Shows Early Promise for Patients With Trastuzumab-Resistant Breast Cancer - The ASCO Post [Internet]. [cité 25 avr 2018]. Disponible sur: <http://www.ascopost.com/News/58327>

37. Blank CU, Haanen JB, Ribas A, Schumacher TN. CANCER IMMUNOLOGY. The « cancer immunogram ». *Science*. 6 mai 2016;352(6286):658-60.

38. 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*. 9 juin 2015;112(12):1904-10.

39. Azab B, Bhatt VR, Phookan J, Murukutla S, Kohn N, Terjanian T, et al. Usefulness of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting short- and long-term mortality in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*. janv 2012;19(1):217-24.

40. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. janv 2009;45(2):228-47.

41. Ferte C, Fernandez M, Hollebecque A, Koscielny S, Levy A, Massard C, et al. Tumor Growth Rate Is an Early Indicator of Antitumor Drug Activity in Phase I Clinical Trials. *Clin Cancer Res*. 1 janv 2014;20(1):246-52.

42. Champiat S, Dercle L, Ammari S, Massard C, Hollebecque A, Postel-Vinay S, et al. Hyperprogressive Disease Is a New Pattern of Progression in Cancer Patients Treated by Anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 avr 2017;23(8):1920-8.

43. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. févr 2015;26(2):259-71.

44. Hendry S, Salgado R, Gevaert T, Russell PA, John T, Thapa B, et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. *Adv Anat Pathol*. sept 2017;24(5):235-51.

45. Grusso T, Gigoux M, Bertos N, Manem VS, Zuo D, Saleg SM, et al. Abstract PD6-05: Distinct tumor microenvironments stratify triple negative breast cancer into immune subtypes. *Cancer Res*. 15 févr 2018;78(4 Supplement):PD6-05-PD6-05.

46. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. juin 2014;106(6):dju124.

47. Hua C, Boussemart L, Mateus C, Routier E, Boutros C, Cazenave H, et al. Association of Vitiligo With Tumor Response in Patients With Metastatic Melanoma Treated With Pembrolizumab. *JAMA Dermatol.* janv 2016;152(1):45-51.
48. Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD, Topalian SL, Schadendorf D, Larkin J, et al. Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol.* mars 2017;35(7):785-92.
49. Champiat S, Ferrara R, Massard C, Besse B, Marabelle A, Soria J-C, et al. Hyperprogressive disease: recognizing a novel pattern to improve patient management. *Nat Rev Clin Oncol.* déc 2018;15(12):748-62.
50. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 22 oct 2015;373(17):1627-39.
51. Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 12 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27718784>
52. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, Fradet Y, Lee J-L, Fong L, et al. Pembrolizumab as Second-Line Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med.* 16 mars 2017;376(11):1015-26.
53. Atezolizumab as first-line therapy in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial [Internet]. [cité 12 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5568632/>
54. Kato S, Goodman A, Walavalkar V, Barkauskas DA, Sharabi A, Kurzrock R. Hyperprogressors after Immunotherapy: Analysis of Genomic Alterations Associated with Accelerated Growth Rate. *Clin Cancer Res.* 1 août 2017;23(15):4242-50.
55. Saâda-Bouزيد E, Defaucheux C, Karabajakian A, Palomar Coloma V, Servois V, Paoletti X, et al. Hyperprogression during anti-PD-1/PD-L1 therapy in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 13 avr 2017;
56. Kurman JS, Murgu SD. Hyperprogressive disease in patients with non-small cell lung cancer on immunotherapy. *J Thorac Dis.* févr 2018;10(2):1124-8.
57. Wang Q, Gao J, Wu X. Pseudoprogression and hyperprogression after checkpoint blockade. *Int Immunopharmacol.* 1 mai 2018;58:125-35.
58. Ferrara R, Mezquita L, Texier M, Lahmar J, Audigier-Valette C, Tessonier L, et al. Hyperprogressive Disease in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With PD-1/PD-L1 Inhibitors or With Single-Agent Chemotherapy. *JAMA Oncol.* 1 nov 2018;4(11):1543-52.
59. Tisoncik JR, Korth MJ, Simmons CP, Farrar J, Martin TR, Katze MG. Into the Eye of the Cytokine Storm. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* mars 2012;76(1):16-32.
60. Apetoh L, Tesniere A, Ghiringhelli F, Kroemer G, Zitvogel L. Molecular interactions between dying tumor cells and the innate immune system determine the efficacy of conventional anticancer therapies. *Cancer Res.* 1 juin 2008;68(11):4026-30.
61. Netherlands MK Leonie Voorwerk, Hugo Horlings, Karolina Sikorska, Koen van der Vijver, Maarten Slagter, Sarah Warren, SuFey Ong, Terry Wiersma, Nicola Russell, Ferry Lalezari, Michiel de Maaker, Inge Kemper, Ingrid A Mandjes, Myriam Chalabi, Gabe S Sonke, Roberto Salgado, Sabine C Linn, Ton Schumacher, Christian U Blank; Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, Netherlands; The Netherlands Cancer Institute, Antoni van Leeuwenhoek Hospital, Amsterdam, Netherlands; NanoString Technologies, Inc ,Seattle, WA; NanoString, Seattle, WA, US; NKI, Amsterdam, Netherlands; Netherlands Cancer Institute and BOOG Study Center, Amsterdam, Netherlands; Center for Oncological Research (CORE)-campus Sint-Augustinus-University of Antwerp, Antwerpen, Belgium; Department of Medical Oncology-Antoni van

Leeuwenhoek Hospital, Netherlands Cancer Institute, Amsterdam. Welcome [Internet]. Meeting Abstracts. [cité 7 juin 2018]. Disponible sur: [index.html](#)

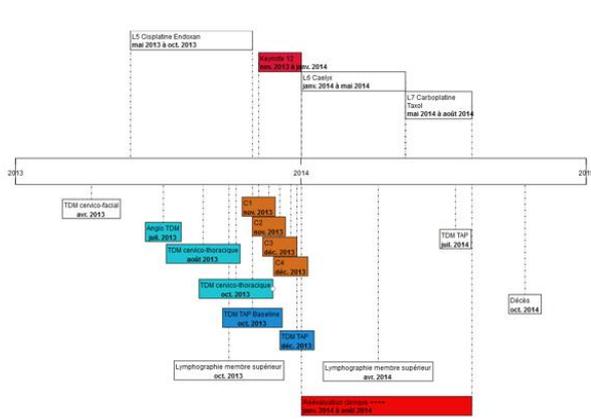
62. Kim JM, Chen DS. Immune escape to PD-L1/PD-1 blockade: seven steps to success (or failure). *Ann Oncol*. 1 août 2016;27(8):1492-504.

63. Cimino-Mathews A, Ye X, Meeker A, Argani P, Emens LA. Metastatic triple-negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: a pilot study. *Hum Pathol*. oct 2013;44(10):2055-63.

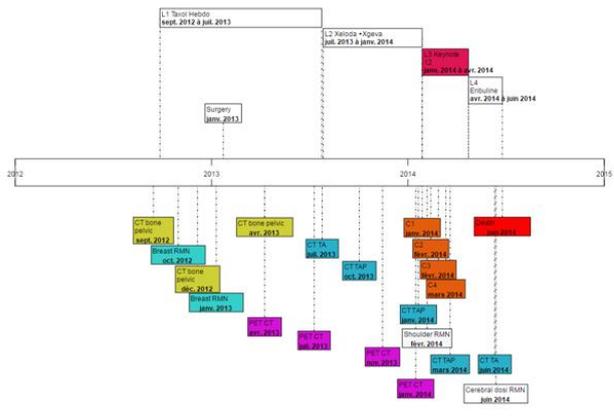
64. Bareche Y, Venet D, Ignatiadis M, Aftimos P, Piccart M, Rothe F, et al. Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis. *Ann Oncol*. 2018;

65. Emens LA, Cruz C, Eder JP, Braiteh F, Chung C, Tolaney SM, et al. Long-term Clinical Outcomes and Biomarker Analyses of Atezolizumab Therapy for Patients With Metastatic Triple-Negative Breast Cancer: A Phase 1 Study. *JAMA Oncol*. 1 janv 2019;5(1):74.

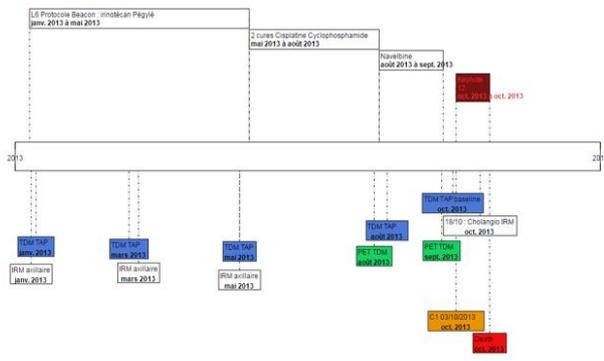
Annexe 1 : Frises chronologiques



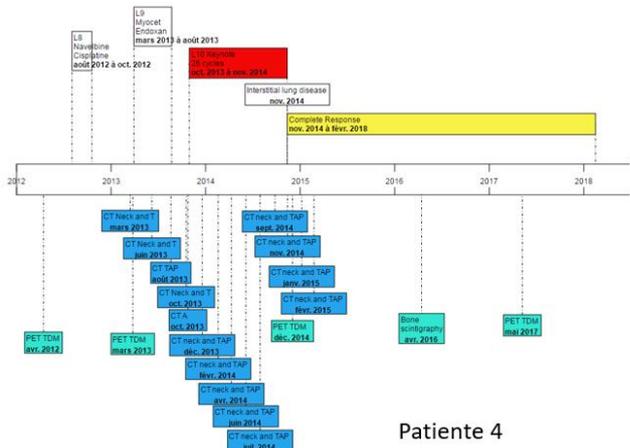
Patiente 1



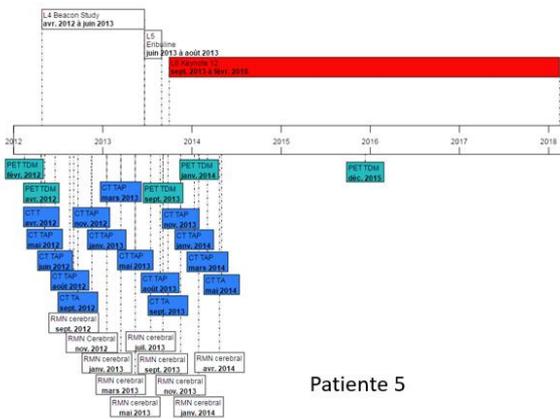
Patiente 2



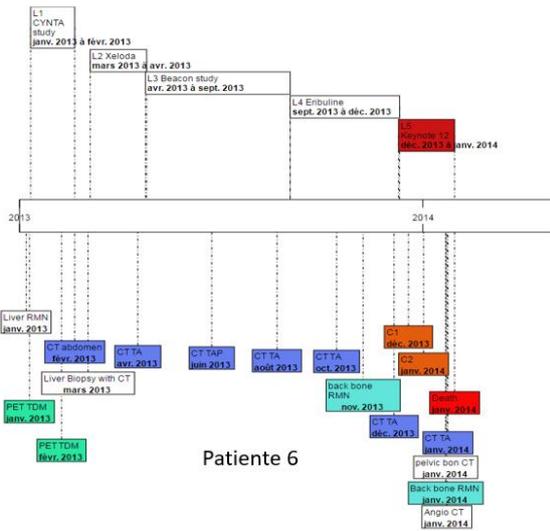
Patiente 3



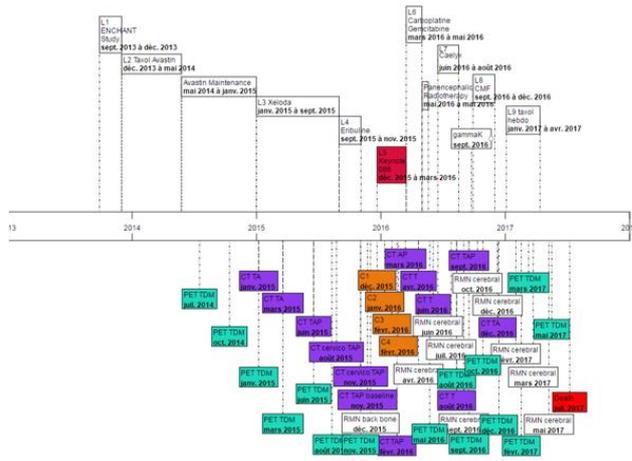
Patiente 4



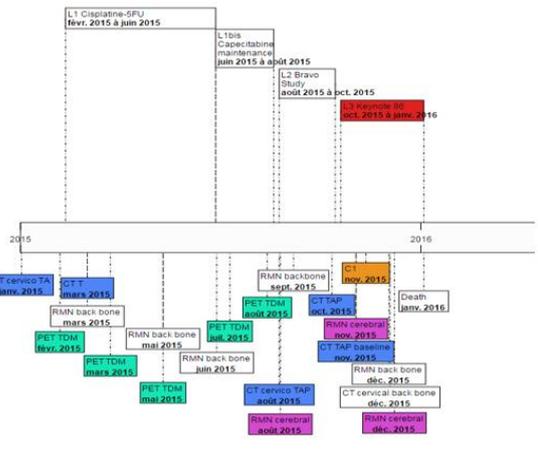
Patiente 5



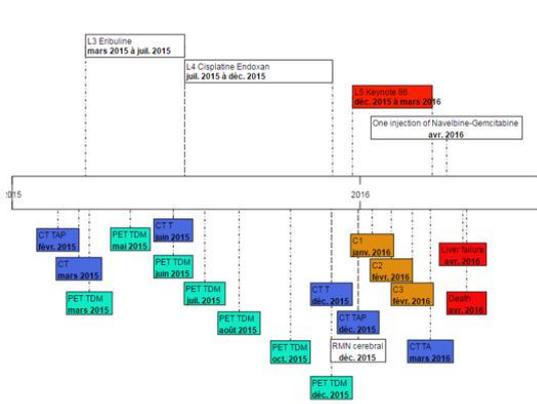
Patiente 6



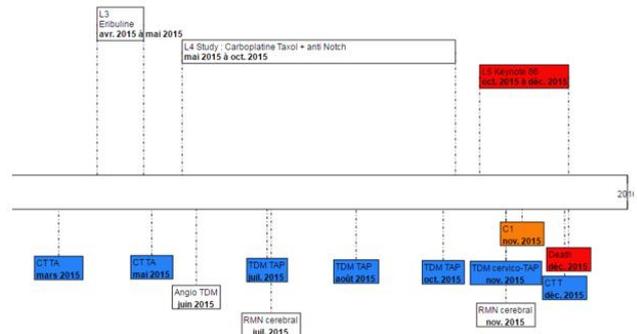
Patiente 7



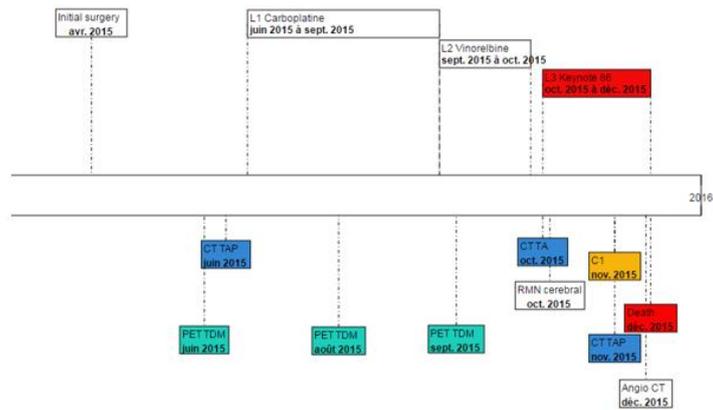
Patiente 8



Patiente 9



Patiente 10



Patiente 11

Annexe 2 :

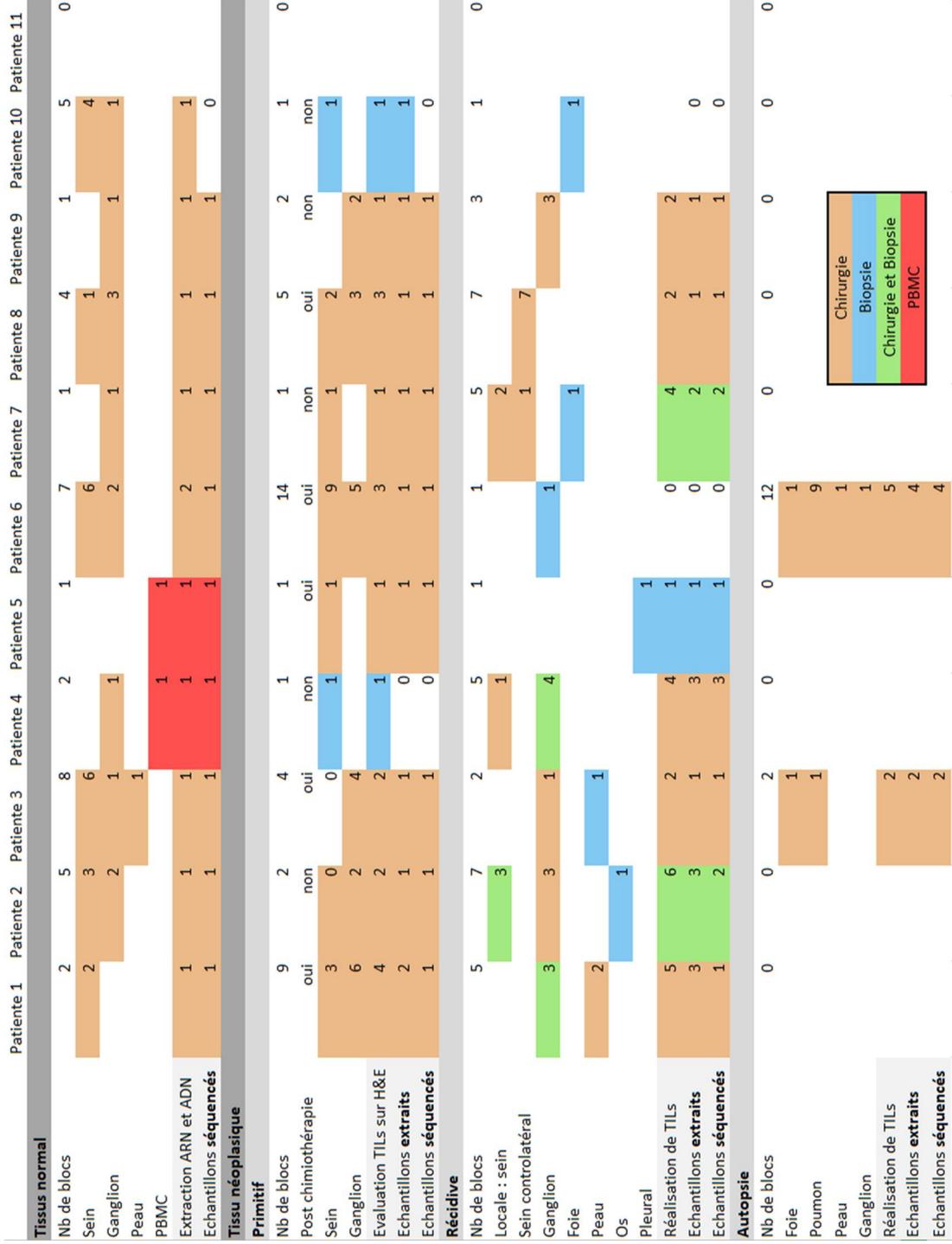
Nombre de blocs FFPE récupérés avec nombre de lames H&E examinés pour analyse des TILS ; nombres d'échantillons extraits (ARN et ADN) et nombres d'échantillons séquencés.

Surlignage en orange : Blocs récupérés d'une chirurgie

Surlignage en bleu : Blocs récupérés d'une biopsie

Surlignage en vert : Blocs récupérés d'une chirurgie et d'une biopsie

Surlignage en rouge : PBMC



AUTEUR : Nom : GIRARD

Prénom : Edwina

Date de Soutenance : 29 mars 2019

Titre de la thèse : Analyse translationnelle de la réponse au pembrolizumab dans le cancer métastatique de type « triple négatif ».

Thèse - Médecine - Lille 2019

Cadre de classement : *Oncologie médicale*

DES + spécialité : *Oncologie médicale*

Mots-clés : Cancer du sein triple négatif métastatique, immunothérapie, réponse exceptionnelle, hyperprogression.

Résumé :

Contexte : Le cancer du sein triple négatif (TNBC) est un sous-type de cancer du sein de mauvais pronostic dont la prise en charge thérapeutique est limitée. L'immunothérapie par inhibiteurs des points de contrôle immunitaire a montré une activité anti-tumorale pour une faible proportion de ces patientes. Pour d'autres, la progression est si rapide qu'un décès survient rapidement après l'instauration du traitement soulevant la nécessité d'exclure ces patientes pour lesquels le traitement semble toxique.

Objectif : L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques cliniques, biologiques, radiologiques et histologiques associés à la réponse ou non réponse au pembrolizumab dans le TNBC métastatique afin d'identifier des nouveaux biomarqueurs discriminants.

Méthodes : Nous avons analysé rétrospectivement 11 cas de TNBC métastatiques (PD-L1 positives) en échec de traitement standard traités par pembrolizumab (anti-PD1) dans le cadre d'études cliniques. La réalisation de frises chronologiques a permis l'analyse fine des données cliniques, biologiques et radiologiques. L'analyse radiologique a consisté à comparer le taux de croissance tumorale sous pembrolizumab et sous le traitement standard précédant. L'infiltration lymphocytaire tumorale a été évaluée au niveau des tumeurs primitives ainsi qu'au niveau de biopsies de lésions métastatiques et d'échantillons provenant de deux autopsies.

Résultats : Deux patientes ont présenté d'excellentes réponses au traitement et sont toujours en vie 4 ans après le début de leur traitement. Elles présentaient avant de commencer le traitement une plus faible charge tumorale et une maladie plus indolente. Leurs évolutions sous pembrolizumab sont marquées par l'apparition d'effets secondaires auto-immuns. Six patientes ont présenté des maladies rapidement progressives et sont décédées peu de temps après l'instauration du traitement. Leur tableau clinique se distinguait à contrario par une forte charge tumorale et des facteurs initiaux cliniques et biologiques de mauvais pronostic. Parmi ces patientes, on distinguait celles dont l'étiologie de la progression est probablement liée à l'évolution rapide d'une maladie non freinée par le traitement, et celles dont l'imputabilité du pembrolizumab ne peut être exclue. Pour distinguer ses 2 types de population, la mesure du taux de croissance tumoral est essentielle.

Conclusion : Ce travail permet d'identifier plusieurs profils de réponse au pembrolizumab chez les patientes atteintes d'un TNBC métastatique.

Composition du Jury :

Président : Pr PENEL

Assesseurs : Pr COPIN, Pr MORTIER, Dr BUISSERET