

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année 2022

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Impact des altérations oncogéniques sur l'efficacité
de la combinaison chimiothérapie – immunothérapie dans les
cancers bronchiques non à petites cellules non-épidermoïdes :
étude d'une cohorte rétrospective multicentrique**

Présentée et soutenue publiquement le 14 octobre 2022 à 16 heures
au Pôle Formation
par **Marine MARCHAL**

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Arnaud SCHERPEREEL

Asseseurs :

Madame le Docteur Sarah HUMEZ

Monsieur le Docteur Vincent LEROY

Directeur de thèse :

Monsieur le Professeur Alexis CORTOT

AVERTISSEMENT

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

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABBREVIATIONS	7
I. INTRODUCTION	9
A. Les cancers bronchiques non à petites cellules avancés : généralités	9
B. Les altérations oncogéniques dans les CBNPC	11
1. Le concept d'addiction oncogénique	11
2. Les différentes altérations oncogéniques dans les CBNPC	12
3. Les techniques de détection des anomalies moléculaires	19
C. Les traitements systémiques des CBNPC non-épidermoïdes avancés	21
1. Les chimiothérapies cytotoxiques et le bevacizumab	21
2. Les thérapies ciblées	22
3. Les inhibiteurs de check-points immunitaires	25
D. Les facteurs histo-moléculaires prédictifs de réponse à l'immunothérapie	30
1. Le PDL1	30
2. La charge mutationnelle tumorale	32
3. Les lymphocytes intra-tumoraux	34
4. Les drivers oncogéniques	35
5. Les mutations de TP53	36
E. L'association chimiothérapie – immunothérapie	47
1. Les essais cliniques princeps	47
2. Chimiothérapie et immunothérapie : une combinaison synergique	49
3. Association chimiothérapie – immunothérapie et altérations oncogéniques	51
II. ARTICLE	57
III. DISCUSSION	91
A. Les principaux résultats	91
1. La population de l'étude	91
2. L'efficacité de l'association CIT en fonction des sous-groupes mutationnels	92
3. Les autres facteurs histo-moléculaires étudiés : expression de PDL1, surexpression de ME et co-mutations STK11 et TP53	98
B. Les forces et limites de l'étude	100
C. Les autres biomarqueurs de réponse à l'immunothérapie en cours d'évaluation	103
D. L'association atezolizumab – bevacizumab – carboplatine – paclitaxel	105
IV. CONCLUSION	109
V. REFERENCES	111
VI. RESUME	123

ABREVIATIONS

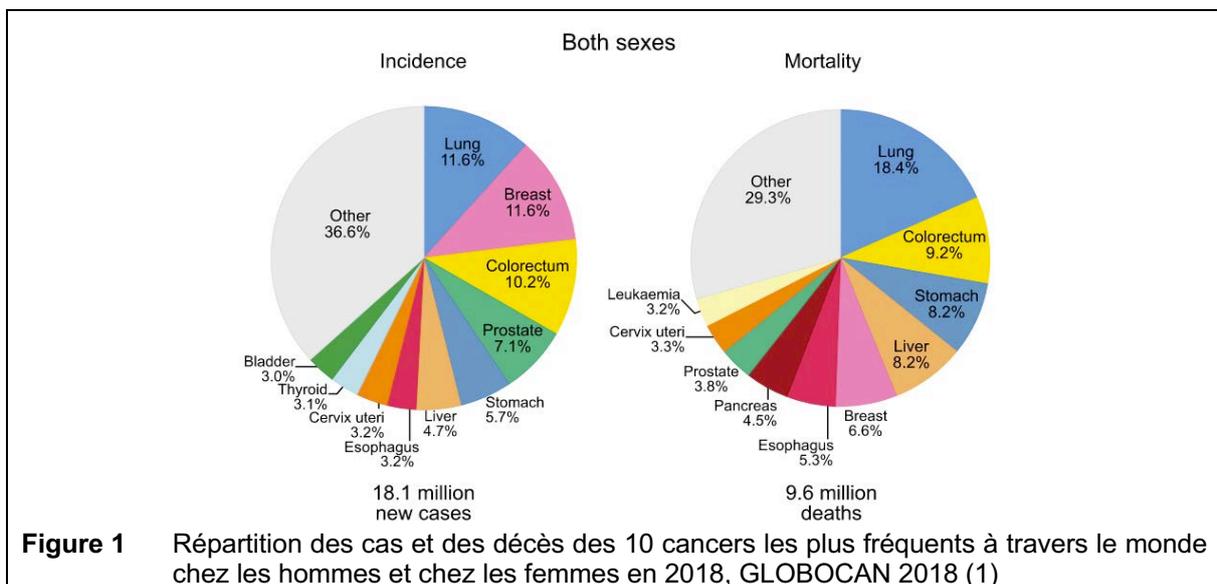
ABCP	Atezolizumab – bevacizumab – carboplatine – paclitaxel
Akt	Oncogene of the AKT8 (AKR mouse thymoma-8) virus
ALK	Anaplastic lymphoma kinase
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AMPK	Adenosine monophosphatase-activated protein kinase
BRAF	B-Raf proto-oncogene
CBNPC	Cancers bronchiques non à petites cellules
CCL22	Chemokine ligand 22
CEP7	Centromere of chromosome 7
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
c-MYC	MYC proto-oncogene protein
CTLA4	Cytotoxic T-Lymphocyte associated protein 4
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
CXCL10	C-X-C Motif Chemokine Ligand 10
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EML4	Echinoderm microtubule-associated protein like 4
ERK	Extracellular signal-regulated kinases
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Fluorescence in situ hybridization
GCN	Gene copy number
HER2	Human epidermal growth factor receptor-2
HGF	Hepatocyte growth factor
HIF-1 α	Hypoxia-inductible factor 1 α
HR	Hazard ratio
IC 95 %	Intervalle de confiance à 95%
ICI	Inhibiteur de checkpoint immunitaire
IQR	Interval interquartile range
KIF5B	Kinesin Family Member 5B
IDO	Indoleamine 2,3-dioxygénase
IL	Interleukine
INF	Interferon
IRF	Interferon regulatory factor
ITK	Inhibiteur de tyrosine kinase
JAK	Janus kinase
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
KEAP1	Kelch-like ECH-associated protein 1
LAG3	Lymphocyte activation gene 3
LKB1	Liver kinase B1
LIT	Lymphocytes intra-tumoraux
MAPK	Mitogen active protein kinases
mTOR	Mammalian target of rapamycine
MEK	MAP/ERK kinase
MET	MET proto-oncogene
MDSC	Myeloid-derived suppressor cells
NF- κ B	Nuclear factor- κ B
NGS	Next generation sequencing, séquençage nouvelle génération
NRF2	Nuclear factor erythroid-2-related factor2
NE	Not estimable
NK	Natural killer
NR	Not reached
NRG1	Neuregulin 1
NTRK	Neurotrophic tyrosine receptor kinase
OMS	Organisation mondiale pour la santé
ORR	Objective response rate
(m)OS	(Median) Overall survival

PD(L)1	Programmed cell death (ligand) 1
(m)PFS	(Median) Progression-free survival
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
POLE	DNA polymerase epsilon
POLD1	DNA polymerase delta 1
PTEN	Phosphatase and TENsin homolog
RECIST	Response criteria in solid tumors
RET	RET proto-oncogene
ROS1	ROS proto-oncogene 1
SG(m)	Survie globale (médiane)
SSP(m)	Survie sans progression (médiane)
STAT	Signal transducers and activators of transcription
STING	Stimulator of interferon genes
STK11	Serine/threonine kinase 11
TEP	Tomographie par émission de positons
TIGIT	T-cell immunoreceptor with immunoglobulin and immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif domains
TIM3	T-cell immunoglobulin and mucin containing protein-3
TGF- β	Transforming growth factor
TMB	Tumor mutational burden, charge mutationnelle
TNF- α	Tumor necrosis factor α
TP53	Tumor protein 53
Treg	Lymphocytes T régulateurs
TRO	Taux de réponse objective
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VISTA	V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation
Wnt	Wnt proto-oncogen
Wt	Wild-type
95% CI	95% confidence interval

I. INTRODUCTION

A. Les cancers bronchiques non à petites cellules avancés : généralités

Le cancer bronchique, responsable de 33117 décès en France et 1,8 millions de décès à travers le monde en 2018, représente la première cause de décès par cancer en France et dans le monde (Figure 1) (1).



Avec plus de 46000 cas incidents en 2018, il est le 3^e cancer le plus fréquent en France, tous sexes confondus. Il se place au 2^e rang des cancers incidents chez l'homme et au 3^e rang chez la femme. Alors que le taux d'incidence se stabilise chez l'homme entre 1990 et 2018 (-0,3% par an en moyenne), il augmente en moyenne de 5% par an chez la femme. L'âge médian au diagnostic est de 67 ans chez les hommes et 65 ans chez les femmes (2).

80% des cancers bronchiques sont attribuables au tabac, ce qui en fait de loin le principal facteur de risque (2). Dans les pays occidentaux, 10 à 15% des cas de cancers bronchiques sont cependant diagnostiqués chez des patients non-fumeurs. La part de patients non-fumeurs est plus importante dans les pays asiatiques, entre

32 et 38%, avec une nette majorité de femmes (3). Les autres facteurs de risques de cancer bronchique sont l'exposition aux métaux lourds, aux radiations ionisantes ou aux polluants atmosphériques. Certaines pathologies pulmonaires telles que la bronchopneumopathie chronique obstructive, la fibrose pulmonaire idiopathique ou la tuberculose sont par ailleurs associées à un surrisque de cancer bronchique (4).

Les cancers bronchiques sont divisés en deux grands types histologiques : le carcinome bronchique non à petites cellules (CBNPC), qui est le plus fréquent, aussi bien chez les patients fumeurs que chez les non-fumeurs (85% des cas) et le carcinome pulmonaire à petites cellules (15% des cas). Au sein des CBNPC, on distingue principalement 2 sous-types histologiques : les adénocarcinomes, qui sont majoritaires (40% de l'ensemble des cas de cancers bronchiques) et les carcinomes épidermoïdes (25% à 30% des cas). Les autres sous-types histologiques sont les carcinomes à grandes cellules (10 à 15% des cas) et les carcinomes *No Otherwise Specified* (20% des cas) (5).

Bien qu'une diminution du taux de mortalité soit observée sur les dernières décennies, le cancer bronchique reste une maladie au pronostic sombre avec un taux de survie à 5 ans de 23% entre 2012 et 2018. Le pronostic est en réalité directement grevé par le degré d'extension de la maladie au diagnostic puisque le taux de survie à 5 ans est de 61% au stade localisé alors qu'il n'est plus que de 33% au stade régional et de 7% au stade métastatique. Cependant, du fait de son développement souvent insidieux et de l'absence de politique publique de dépistage organisée, plus de la moitié des cas de cancer bronchique est diagnostiquée à un stade métastatique (6). La maladie n'est dans cette situation plus accessible à un traitement curatif et la prise en charge repose alors sur un traitement systémique.

B. Les altérations oncogéniques dans les CBNPC

1. Le concept d'addiction oncogénique

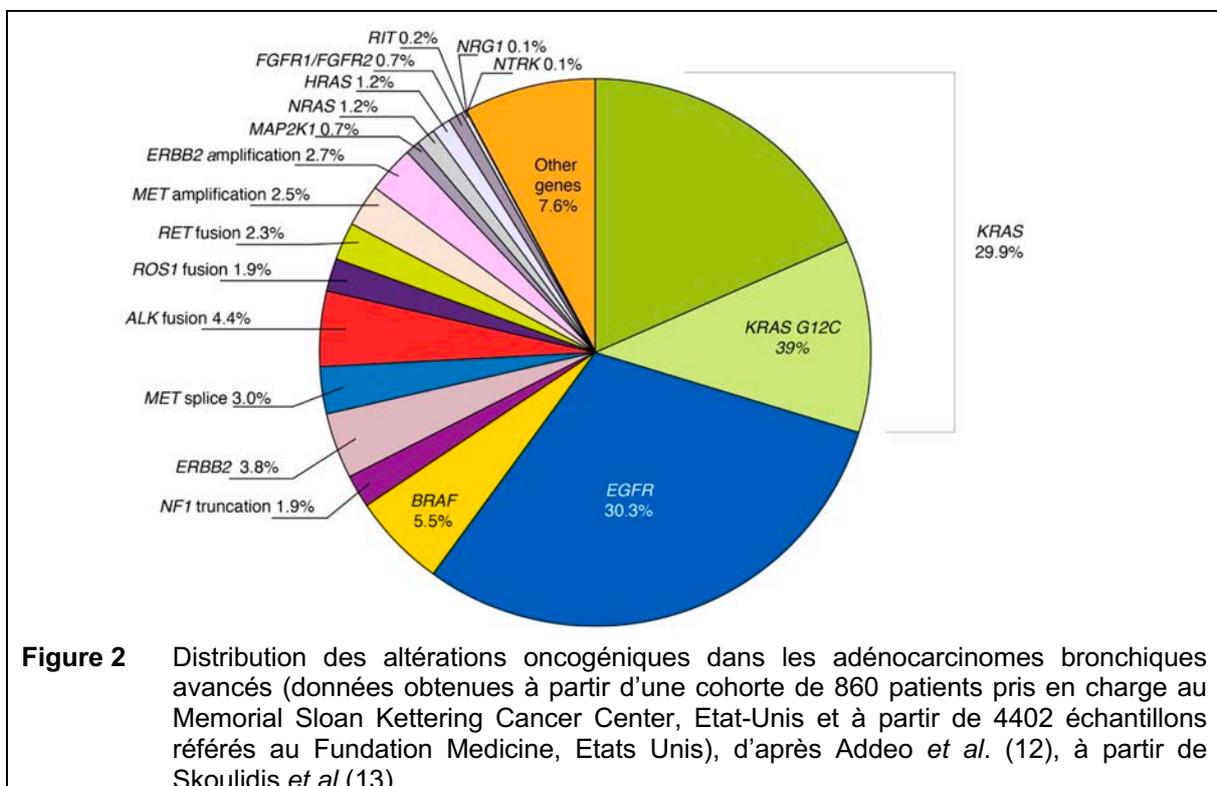
En 2004, l'identification de mutations activatrices dans le domaine tyrosine kinase du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) chez un sous-ensemble de patients atteints d'un CBNPC qui présentaient des réponses cliniques remarquables vis-à-vis d'un inhibiteur de la tyrosine kinase (ITK) de l'EGFR, le gefitinib, a ouvert la voie au développement des thérapies ciblées dans les CBNPC et a entériné le concept d'addiction aux oncogènes (7).

Bien que les modifications génomiques des cellules cancéreuses soient complexes, il a été montré que l'inversion d'une seule de ces anomalies peut, dans certains cas, inhiber la croissance tumorale. De cette observation est né le concept d'addiction oncogénique (8). Dans ce modèle, la cellule cancéreuse est dépendante d'une seule voie de signalisation cellulaire, une seule altération moléculaire étant suffisante pour faire passer la cellule d'un phénotype normal à un phénotype transformant et la maintenir dans cet état. Par conséquent, l'inhibition de la voie dérégulée prive la cellule cancéreuse de son principal signal d'activation mitotique et aboutit à la mort cellulaire. Seules les mutations qui surviennent sur des gènes clés peuvent être à l'origine d'un tel processus. Les gènes concernés sont des proto-oncogènes qui codent pour des protéines impliquées dans la transduction du signal entre l'environnement cellulaire et le noyau (récepteurs transmembranaires et leurs voies de signalisation). Les altérations génomiques responsables d'une addiction oncogénique sont appelées « altérations oncogéniques » ou « drivers oncogéniques » et sont par essence mutuellement exclusives.

Le modèle d'addiction oncogénique s'oppose au modèle de carcinogenèse multi-étapes, caractéristique des CBNPC de type épidermoïde, au cours duquel la cellule normale se transforme progressivement en cancer, au fur et à mesure de l'accumulation d'anomalies moléculaires, en passant par différentes étapes que sont la tumeur bénigne, la lésion précancéreuse et le carcinome in-situ (9).

2. Les différentes altérations oncogéniques dans les CBNPC

A ce jour, ont été identifiées comme responsables d'un processus d'addiction oncogénique, les mutations activatrices des gènes EGFR, KRAS, BRAF, MET et HER2, les réarrangements des gènes ALK, ROS1, RET, NTRK et NRG1 ainsi que l'amplification du gène MET (Figure 2) (10). Au moins 50 % des patients atteints d'un adénocarcinome bronchique présentent l'une de ces altérations oncogéniques en France. Leur prévalence s'élève à plus de 75% chez les patients non-fumeurs (11).



a. Les mutations de l'EGFR

En France, les mutations activatrices de l'EGFR sont retrouvées chez 12% des patients atteints d'un adénocarcinome bronchique. Elles sont plus fréquentes chez les femmes (21%) et chez les non-fumeurs (44%) (11). Leur prévalence est nettement plus importante dans les populations asiatiques, et qui plus est chez les femmes et les non-fumeurs, chez qui elles représentent plus de la moitié des adénocarcinomes quel que soit le sexe ou le statut tabagique (14,15).

Le récepteur EGFR, également appelé HER1 ou ErbB1, est un récepteur transmembranaire tyrosine-kinase appartenant à la famille des récepteurs HER (*human epidermal growth factor receptor*) ou ErbB qui comprend également HER2/Erb2, HER3/ErbB3 et HER4/ErbB4. A l'état physiologique, le récepteur EGFR est exprimé de façon ubiquitaire et particulièrement par les cellules épithéliales. Son activité est régulée, dans les conditions homéostatiques, par des ligands spécifiques de la famille du facteur de croissance EGF. La liaison d'EGFR avec un de ses ligands entraîne une homodimérisation ou une hétérodimérisation du récepteur puis l'activation des voies de signalisation PI3k (*phosphatidylinositol-3 kinase*) – Akt – mTOR (*mammalian target of rapamycin*), RAS – RAF – MEK – ERK dite voie des MAPkinases (*mitogen-activated protein kinases*) et Jak (*janus kinase*) – Stat (*signal transducer and activator of transcription*) lesquelles favorisent la survie, la prolifération, la migration ainsi que la différenciation cellulaire (Figure 3). Le récepteur EGFR joue ainsi un rôle clé dans le développement et le maintien de l'homéostasie épithéliale (16).

Dans les années 90, des mutations de l'EGFR responsables d'une activation constitutive du récepteur ont été mises en évidence au sein de CBNPC. Ces altérations induisent, indépendamment de la liaison du récepteur avec son ligand, une activation

des voies de signalisation sous-jacentes qui entraîne un signal excessif et incontrôlé de survie et de prolifération cellulaire et aboutit à la transformation cancéreuse de la cellule et au développement tumoral. Ces mutations intéressent les exons 18 à 21 qui codent pour le domaine tyrosine kinase d'EGFR. Deux de ces altérations représentent 90 % de l'ensemble des mutations d'EGFR retrouvées dans les CBNPC : les délétions dans l'exon 19 et la substitution L585R dans l'exon 21. D'autres altérations plus rares peuvent être retrouvées : les mutations dans l'exon 18 comme la substitution G719X, les mutations dans l'exon 20 telle que la substitution T790M, les mutations dans l'exon 21 et notamment la substitution L861Q et les insertions dans l'exon 20 (16).

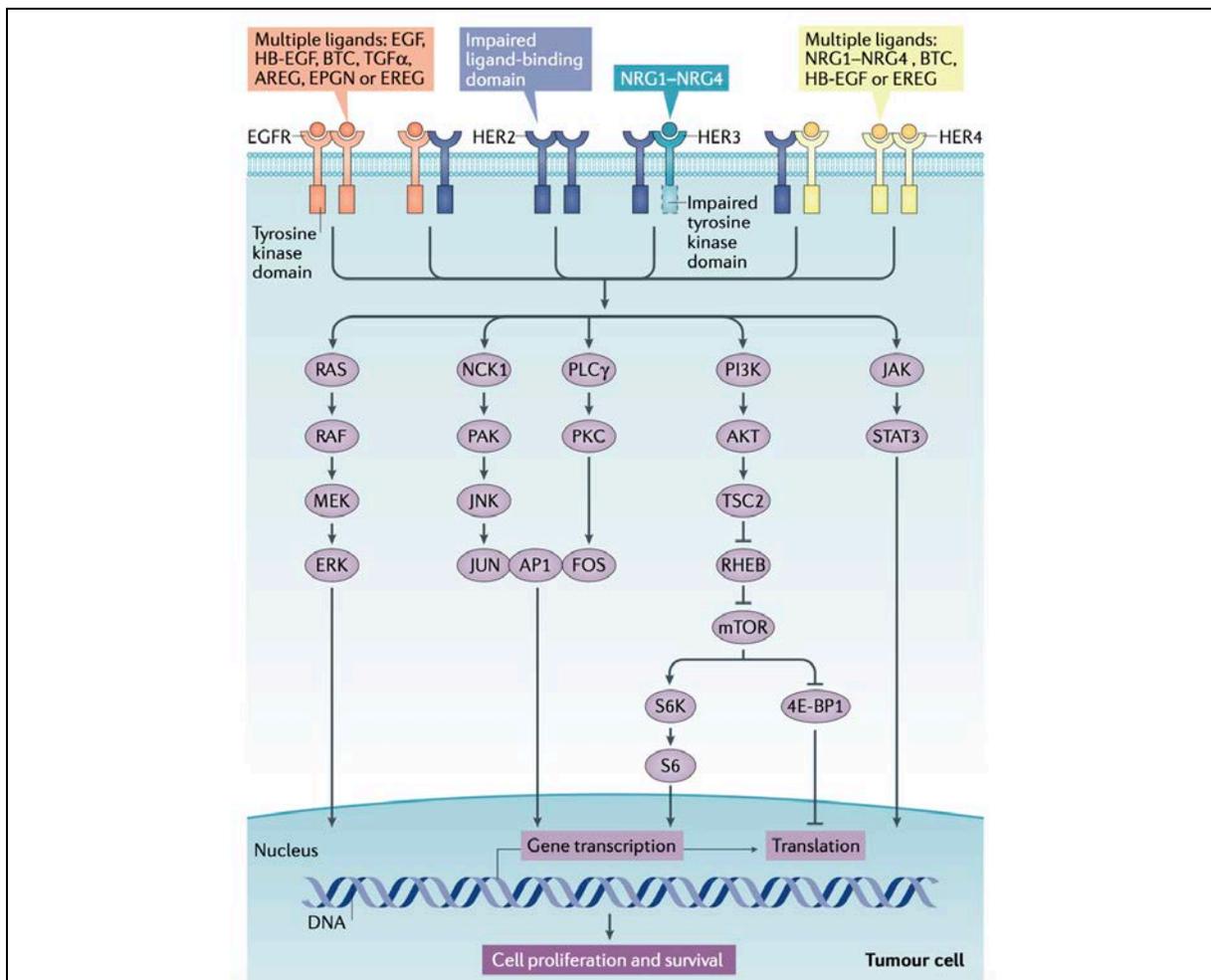


Figure 3 Voies de transduction du récepteur de l'EGFR, d'après Kumagai *et al.* (17)

EGF = Epidermal growth factor; TGF- α = Transforming growth factor- α ; AREG = Amphiregulin; EPGN = Epigen; EREG = Epregrulin; HB-EGF = Heparin-binding EGF-like growth factor; BTC = Betacellulin; TSC2 = Tuberous sclerosis complex-2; RHEB = RAS homolog enriched in brain; S6K = protein S6 kinase; 4E-BP1 = Eukaryotic translation initiation; NCK1 = NCK adaptor protein 1; PAK = p21-activated kinase; JNK = c-Jun N-terminal kinase; PLC γ = phospholipase C γ ; PKC = protein kinase C; AP1 = Activator protein 1)

b. Les mutations d'HER2

Les mutations activatrices d'HER2, principalement représentées par les insertions dans l'exon 20, sont retrouvées approximativement chez 2% des patients atteints d'adénocarcinome bronchique et ce préférentiellement chez les femmes et les non-fumeurs (18).

Le récepteur HER2 ou ErbB2 appartient à la famille des récepteurs HER comme EGFR. À ce jour, aucun ligand n'a été identifié pour l'homodimère d'HER2 et sa fonction est considérée comme liée à des hétérodimérisations avec les autres récepteurs de la famille HER (18).

c. Les réarrangements de ALK

Les réarrangements ALK (*anaplastic Lymphoma Kinase*) sont identifiés chez 5% des patients atteints d'un adénocarcinome bronchique en France et sont plus fréquemment rencontrés chez les patients jeunes et non-fumeurs (11,19).

Le récepteur ALK est un récepteur transmembranaire tyrosine-kinase qui est exprimé de façon transitoire par les cellules neuronales au cours du développement embryonnaire, durant lequel il joue un rôle dans le développement du système nerveux.

Les réarrangements impliquant ALK résultent d'une translocation entre le gène ALK et le gène EML4 (*echinoderm microtubule-associated protein like 4*) au sein du chromosome 2. La fusion de la région codant pour la tyrosine-kinase ALK avec le gène EML4 est responsable d'une activité tyrosine kinase permanente et indépendante de toute fixation à un ligand entraînant un signal incontrôlé de prolifération cellulaire. D'autres partenaires de fusion qu'EML4 ont aussi été rapportés (19).

d. Les réarrangements de ROS1 et RET

Les fusions impliquant ROS1 (*ROS Proto-Oncogene 1*) sont retrouvées chez 1% des cas environ et sont associées au jeune âge et au statut non-fumeur. Le récepteur ROS1 est un récepteur transmembranaire tyrosine-kinase dont la structure est proche de celle de ALK et dont la fonction reste méconnue. Plusieurs partenaires de fusion ont été identifiés, le plus fréquent étant CD74.

Les fusions de RET (*Ret proto-oncogene*) ont été découvertes plus récemment, en 2012, et sont détectées dans environ 1% des cas. Elles sont également associées au statut non-fumeur (20). Le gène RET code pour un récepteur tyrosine kinase qui joue un rôle dans l'organogénèse rénale et le développement du système nerveux entérique. Le partenaire de fusion le plus fréquent est KIF5B (*kinesin family member 5B*).

D'autres fusions chromosomiques plus rares (< 1 % des cas) ont été décrites par la suite à savoir les fusions de NTRK (*neurotrophic tyrosine receptor kinase*) et de NRG1 (*neuregulin 1*) (13).

e. Les mutations de BRAF

Les mutations activatrices de BRAF (*B-Raf proto-oncogène*) sont retrouvées dans 2 à 3% des adénocarcinomes bronchiques tandis qu'elles sont observées chez environ 50% des patients atteints de mélanome (21).

BRAF est une sérine/thréonine kinase située en aval de RAS dans la voie de signalisation des MAPkinases. Dans plus de la moitié des cas, il s'agit d'une mutation V600E qui altère le domaine d'activation de la protéine et augmente son activité kinase. Les mutations BRAF V600E sont plus fréquemment observées chez les

femmes et chez les non-fumeurs tandis que les mutations non-V600E sont habituellement retrouvées chez les patients fumeurs ou anciens fumeurs (22).

f. Les altérations de MET

Le récepteur tyrosine-kinase MET (*MET proto-Oncogene*), dont le ligand est le facteur de croissance hépatocytaire (*hepatocyte growth factor*, HGF), est exprimé physiologiquement par la quasi-totalité des tissus de l'organisme. La voie MET/HGF met en jeu les voies de signalisation PI3kinase-Akt-mTOR et MAPkinases, joue un rôle essentiel au cours du développement embryonnaire puis participe au remodelage et à la régénération des tissus (23). Dans les cancers bronchiques, cette voie peut être dérégulée du fait d'une mutation sur le gène MET, d'une amplification génomique ou d'une surexpression protéique.

Les mutations de MET se distinguent des autres mutations génomiques retrouvées dans les CBNPC par le fait qu'elles intéressent les sites d'épissage de l'exon c'est-à-dire les introns et non pas le domaine kinase du récepteur. Elles sont responsables d'un saut de l'exon 14 lors de la transcription ce qui aboutit à une perte du domaine juxta-membranaire, site de liaison de l'ubiquitine-ligase E3. Il en résulte une diminution de l'ubiquitination et donc de la dégradation du récepteur MET. Ces mutations sont retrouvées chez 3% des patients atteints d'adénocarcinome bronchique environ. Par rapport aux altérations oncogéniques décrites précédemment, elles surviennent habituellement chez des patients âgés, fumeurs ou non-fumeurs (23).

Les amplifications du gène MET se comportent également comme des drivers oncogéniques. Elles sont en outre décrites comme l'un des principaux mécanismes de résistance aux anti-EGFR (24). En fonction de la technique utilisée et des seuils de

positivité retenus la prévalence de l'amplification de MET peut varier de moins de moins de 1% à 5% (23).

La surexpression de MET est de loin la plus fréquente des anomalies de la voie MET/HGF. Différents mécanismes peuvent concourir à la surexpression de MET : les mutations des sites d'épissage de l'exon 14 de MET et l'amplification du gène MET décrites ci-dessus mais aussi une dérégulation de la transcription du fait d'une inactivation de p53 ou une activation de la transcription en réponse à l'hypoxie (25–28). L'expression de MET est aujourd'hui communément évaluée à l'aide d'un score immunohistochimique allant de 0 à 3+. Avec un seuil de positivité de 2+ ($\geq 50\%$ de cellules marquées au moins modérément) , la prévalence de la surexpression de MET au sein des CBNPC est estimée à 40-50% (29). Dans les CBNPC comme dans d'autres cancers, il a été montré que la surexpression de MET est associée à un pronostic défavorable (30,31). Cependant, l'association entre surexpression et phosphorylation des résidus tyrosines du récepteur, témoin de son activation, reste controversée (32). Par ailleurs, il n'a pas été objectivé de bénéfice à l'utilisation des inhibiteurs de MET au cours de deux essais cliniques menés chez des patients présentant un CBNPC avec surexpression de MET $\geq 2+$ (33,34). La surexpression de la protéine MET ne permet ainsi pas à elle seule de sélectionner les tumeurs dépendantes de la voie MET/HGF.

g. Les mutations de KRAS

Le gène KRAS (*kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) est l'oncogène le plus fréquemment muté chez l'homme (35). En France, les mutations de KRAS sont retrouvées chez près d'un patient atteint d'adénocarcinome bronchique sur 3 (11). Il s'agit de mutations ponctuelles au niveau des codons 12 ou 13. La mutation G12C,

qui correspond à la substitution d'une glycine pour une cystéine au niveau du codon 12, représente à elle seule près de la moitié des mutations KRAS dans les adénocarcinomes bronchiques. Si les mutations KRAS sont très largement associées au tabagisme, 5 à 15% des patients non-fumeurs présentent néanmoins une mutation de KRAS. Le spectre des mutations KRAS est différent chez les patients non-fumeurs avec une prédominance de mutation G12D (36).

KRAS est une protéine cytosolique GTPase qui fait partie des voies de signalisation des MAPkinases. Elle relaie les signaux en provenance de divers récepteurs tyrosines kinases, dont EGFR, au travers d'échanges GDP/GTP, sa forme active étant celle liée à la GTP et sa forme inactive celle liée à la GDP. Les mutations de KRAS inhibent l'activité GTPase de la protéine, ce qui entraîne son activation de manière constitutive et déclenche des signaux de prolifération et de survie cellulaires aberrants (36).

3. Les techniques de détection des anomalies moléculaires

Au diagnostic d'un CBNPC avancé non-épidermoïde, une recherche de mutations de l'EGFR, de réarrangement ALK et de réarrangement ROS1 doit au minimum être effectuée afin de guider la 1^{ère} ligne de traitement. A progression au plus tard, il est recommandé de disposer d'une recherche d'anomalie moléculaire plus large incluant la recherche de mutations KRAS, BRAF, HER2 et MET ainsi que la recherche de réarrangements RET, NTKR et NRG1, ces anomalies moléculaires étant accessible à une thérapie ciblée en 2^e ligne ou plus dans le cadre d'AMM, d'autorisations d'accès précoce ou compassionnel ou d'essais cliniques, voire plus précocement dans le cadre d'essais cliniques (37).

L'identification de ces altérations moléculaires nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques parmi l'immunohistochimie (IHC), l'hybridation in situ fluorescente (FISH),

le séquençage ciblé de certains gènes à la recherche de mutations « hot spots » ou le séquençage d'un panel plus large de gènes, voire de l'ARN messager, par *Next Generation Sequencing* (NGS).

La recherche de la protéine de fusion ALK par IHC, sans confirmation par FISH, peut suffire à valider une prise en charge par TKI anti-ALK. En revanche, la recherche de réarrangement ROS1 par IHC doit systématiquement être confirmée par FISH ou NGS en raison de sa faible spécificité. L'IHC peut également permettre de sélectionner les patients présentant une surexpression de MET avant de rechercher une amplification de MET par FISH.

La recherche des mutations EGFR, KRAS, BRAF, HER2 et MET et l'identification des fusions RET, NTKR et NRG1 requièrent respectivement un séquençage de l'ADN et de l'ARN tumoral. En pratique, d'autres gènes d'intérêt sont intégrés aux panels NGS tels les gènes suppresseurs de tumeurs TP53 ou STK11. Ces analyses moléculaires peuvent être réalisées sur divers prélèvements tissulaires ou cytologiques, sous réserve que le matériel tumoral soit suffisamment préservé et riche. En cas d'impossibilité d'obtenir un prélèvement tumoral, une recherche mutationnelle sur ADN tumoral circulant peut être réalisée au moyen d'un prélèvement sanguin (biopsie liquide) avec une spécificité de l'ordre de 70-80% (37,38).

En ce qui concerne la recherche d'amplifications de MET, deux marqueurs de quantification par FISH peuvent être utilisés : le nombre de copies du gène MET et/ou le ratio entre le gène MET et la portion centromérique du chromosome 7 (CEP7) qui permet de distinguer une amplification vraie d'une polysomie. S'il persiste encore des incertitudes concernant les seuils de détection, seule une amplification de MET élevée avec un ratio MET/CEP7 \geq 4-5 ou un nombre de copie de gène \geq 10 serait prédictif d'une addiction oncogénique (39–41).

C. Les traitements systémiques des CBNPC non-épidermoïdes avancés

1. Les chimiothérapies cytotoxiques et le bevacizumab

Les chimiothérapies cytotoxiques ont longtemps été les seules molécules disponibles pour la prise en charge des CBNPC avancés. La chimiothérapie standard des CBNPC non-épidermoïdes avancés est un doublet associant un sel de platine (carboplatine ou cisplatine) et une chimiothérapie de 3^e génération (pemetrexed, paclitaxel, docetaxel, vinorelbine ou gemcitabine) pour une durée de 4 à 6 cycles. Toutes ces combinaisons confèrent un bénéfice en survie modeste avec survie globale médiane (SGm) de l'ordre de 8 à 12 mois (42,43). Après les 4 premiers cycles, la réalisation d'une chimiothérapie de maintenance par pemetrexed confère un gain de SG supplémentaire d'environ 3 mois (SGm de 13,9 mois versus 11 mois ; HR 0,78 [IC 95% 0,64-0,96] (44).

En 2006, il a été montré que l'adjonction du bevacizumab, un anticorps monoclonal anti-VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), à une chimiothérapie à base de carboplatine – paclitaxel chez des patients sélectionnés apporte un bénéfice statistiquement significatif, bien que modeste, en SG (SGm de 12,3 mois versus 10,3 mois ; HR 0,79 [0,67-0,92] (45).

Au cours des dernières décennies, des avancées majeures dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques du processus de cancérisation ont abouti au développement de nouvelles thérapies qui ont transformé la prise en charge des cancers bronchiques : les thérapies ciblées et les inhibiteurs de check-points immunitaires (ICI).

2. Les thérapies ciblées

a. Les thérapies ciblées disponibles dès la 1^{ère} ligne

L'osimertinib constitue aujourd'hui le traitement de première ligne des CBNPC avancés avec une délétion dans l'exon 19 ou une mutation L858R dans l'exon 21, sur la base des résultats de l'essai clinique Flaura. Cet essai de phase III a démontré la supériorité de l'osimertinib par rapport aux thérapies ciblées de 1^{ère} génération (gefitinib et erlotinib) aussi bien en termes de survie sans progression (SSP) (SSPm de 18,9 mois versus 10,2 mois ; HR 0,46 [IC 95% 0,37-0,57]) que de SG (SGm de 38,6 mois versus 31,8 mois ; HR 0,80 [IC 95% 0,64-0,96]) (46).

Les thérapies ciblées, en permettant l'obtention de réponses antitumorales prolongées avec un profil de toxicité favorable, ont fondamentalement transformé la prise en charge des patients atteints de CBNPC avec mutation de l'EGFR. Toutefois, la progression sous traitement reste inéluctable. Les mécanismes à l'origine d'une résistance secondaire aux ITK peuvent être classés en 3 catégories : mutation de la cible, activation d'une autre voie de signalisation et transformation histologique. La survenue d'une mutation T790M dans l'exon 20 de l'EGFR a été identifiée comme responsable d'au moins 50% des cas de résistance acquise aux ITK de 1^{ère} et 2^{ème} génération. L'identification de cette mutation a conduit au développement de l'osimertinib, ITK de 3^e génération, capable de la surmonter (47). Néanmoins, on voit apparaître d'autres mutations de résistance de l'EGFR chez les patients traités par osimertinib (48). L'activation d'autres voies de signalisation, parmi lesquelles les amplifications de MET et HER2, constitue un autre mécanisme de résistance aux ITK anti-EGFR. Enfin, une transformation histologique en carcinome à petites cellules est décrite chez 2 à 14% des patients présentant une résistance acquise aux ITK anti-EGFR (47).

Les insertions dans l'exon 20 de l'EGFR ne sont classiquement pas sensibles aux ITK anti-EGFR habituels. Aujourd'hui, plusieurs molécules (mobicertinib, poziotinib, amivantamab) sont disponibles en cas de mutation de l'exon 20 à partir de la 2^e ligne dans le cadre d'un accès précoce ou compassionnel (10).

Fort du développement des TKI anti-EGFR, les premiers résultats d'efficacité des thérapies ciblées anti-ALK ont été publiés en 2010, seulement 3 ans après l'identification des réarrangements ALK (49). Aujourd'hui, l'alectinib, ITK anti-ALK de 2^e génération, constitue le traitement de 1^{ère} ligne des CBNPC de stade IV avec réarrangement ALK. La supériorité de l'alectinib par rapport au crizotinib sur la SSP et la SG a été démontrée au travers de l'essai clinique de phase III Alex (SSPm de 34,8 versus 10,9 mois ; HR 0,43 [IC 95% 0,32-0,58] et mSG NR versus 57,4 mois ; HR 0,67 95 [IC 95% 0,46-0,98]) (50). De manière similaire à EGFR, des mécanismes de résistance « on-target » ou « off-target » conduisent, à terme, à une perte d'efficacité des ITK anti-ALK.

En cas de réarrangement ROS1, le traitement de 1^{ère} ligne repose sur le crizotinib qui est la seule thérapie ciblée à disposer d'une AMM dans cette indication en France. Néanmoins, l'efficacité du crizotinib dans le contexte de réarrangement ROS1 n'ayant été évaluée qu'au travers d'études non comparatives, la HAS n'a émis un avis favorable pour son remboursement qu'à partir de la 2^e ligne de traitement.

b. Les thérapies ciblées disponibles à partir de la 2^e ligne

Les thérapies ciblées actuellement disponibles à partir de 2^e ligne pour la prise en charge des patients avec altérations oncogéniques sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Tableau 1).

Tableau 1 : Thérapies ciblées disponibles à partir de la 2 ^e ligne							
Altérations moléculaires	Thérapie ciblée	Essai clinique	Ligne	SSPm, mois (IC 95%)	SGm, mois (IC 95%)	TRO, %	Disponibilité
KRAS G12C	Sotorasib	Codebreak 100, phase II, Skoulidis <i>et al.</i> , 2021 (51)	≥ L2	6,8 (5,1-8,2)	12,5 (10,0-NE)	37%	AMM (01.2022), remboursement (07.2022)
			L1	10,8 (7,0-14,5)	18,2 (14,3-28,6)	64%	/
BRAF V600E	Dabrafenib – trametinib	NCT1336634, phase II, Planchard <i>et al.</i> , 2022(52)	≥ L2	10,2 (6,9-16,7)	17,3 (12,3-40,2)	68%	AMM (03.2017), remboursement (01.2020)
			≥ L1	8,5 (6,7-11,0)	17,1 (12,0-26,8)	48%	AMM (02.2022), non remboursé
MET exon 14	Capmatinib	Geometry phase II, Wolf <i>et al.</i> , 2020 (41)	L1	12,0 (5,5-16,9)		68%	/
			≥ L2	4,8 (4,1-7,75)		41%	AMM (06.2022), non remboursé
Fusion RET	Salpercatinib	Libretto 001, phase I/II, Drilon <i>et al.</i> , 2020 (54)	L1	NR		85%	/
			≥ L2	16,5 (13,7-NE)		64%	AMM (02.2021), remboursement (06.2021)
Fusion RET	Praseltinib	Arrow, phase I/II, Gainor <i>et al.</i> 2021 (55)	L1	9,1 (6,1-13,0)	NR	19%	AMM (11.2021)
			≥ L2	17,1 (8,3-22,1)	NR	54%	Remboursement (04.2022)
Fusion NTRK	Larotrectinib (toutes tumeurs solides)	Analyse de 3 essais basket de phase I/II, Hong <i>et al.</i> , 2020 (56)	≥ L2	28,3 (22,1-NE)	44,4 (36,5-NE)	79	AMM (09.2019), non remboursé
			Entrectinib (toutes tumeurs solides)	Analyse de 3 essais basket de phase I/II, Doebele <i>et al.</i> , 2020 (57)	≥ L2	11,0 (8,0-14,9)	21,0 (14,9-NE)

La prise en charge des patients avec des mutations KRAS non-G12C et BRAF non-V600E ne diffère pas de ceux sans addiction oncogénique.

Vingt-cinq patients avec amplification de MET ≥ 6 copies de gènes (GCN) ont été traités par crizotinib dans la cohorte ACSé avec des résultats décevants (taux de réponse objective de 16% et SSPm de 3,2 mois [IC 95% 1,9-3,7]) (58). Dans l'essai de phase II Geometry, l'inclusion des patients avec amplification de MET < 10 GCN a été suspendue pour futilité. Parmi les 69 patients traités par capmatinib en 2^e ligne ou plus qui présentaient une amplification de MET ≥ 10 GCN, la SPP médiane était de 4,14 mois (2,79-5,52) et le taux de réponse objectif de 19% (41).

A ce jour, seule la participation à un essai clinique permet aux patients porteurs d'une mutation HER2 de bénéficier d'un traitement par thérapie ciblée. L'essai de phase II Destiny-lung 01 évaluant l'efficacité du trastuzumab – deruxtecan a montré des résultats particulièrement intéressants chez 91 patients prétraités avec une SSP médiane de 8,2 mois (IC 95% 6,0-11,9) et SG médiane de 17,8 mois (13,8-22,1).

3. Les inhibiteurs de point de contrôles immunitaires

A partir de 2015, l'arrivée des immunothérapies anti-check-points immunitaires anti-PD1 (pembrolizumab, nivolumab) et anti-PDL1 (atezolizumab, durvalumab) a de nouveau révolutionné la prise en charge des CBNPC en permettant l'obtention de réponses prolongées pour un profil de tolérance très favorable.

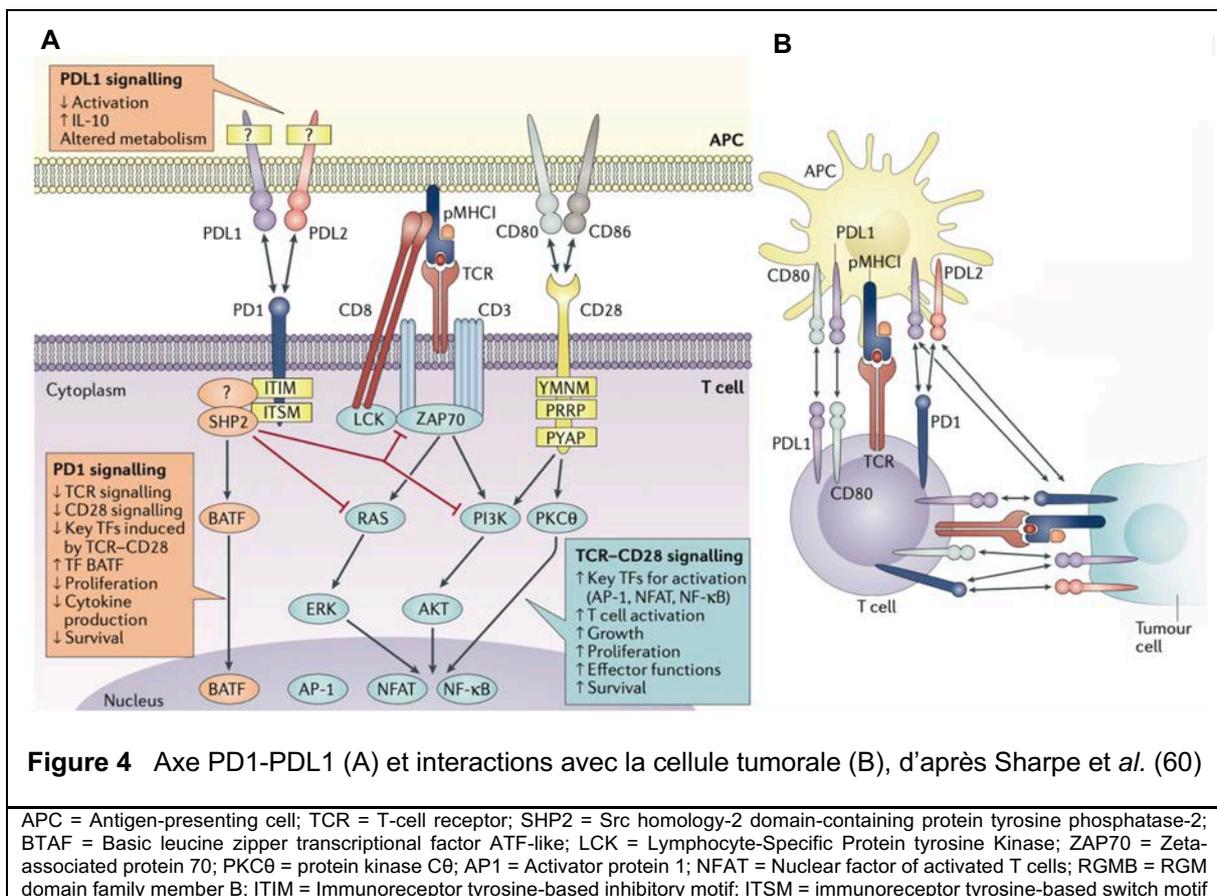
L'immunothérapie constitue un changement de paradigme majeur puisque le traitement ne cible plus directement les cellules tumorales mais vise à restaurer une réponse immunitaire antitumorale efficace. Il est en effet maintenant bien établi que l'échappement des cellules tumorales au système immunitaire est une condition nécessaire au développement des cancers (théorie de l'immunoédition : élimination – équilibre – échappement). Plusieurs mécanismes d'échappement ont été décrits :

- La sélection de variants tumoraux résistants à l'action antitumorale du système immunitaire (perte des molécules impliquées dans la présentation de l'antigène, résistance à la lyse tumorale),
- Le recrutement de cellules immunosuppressives au sein du microenvironnement tumoral (lymphocytes T régulateurs, macrophages de type M2, cellules myéloïdes suppressives),
- La sécrétion de cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 ou TGF- β ,
- L'expression de molécules inhibitrices vis-à-vis des lymphocytes T correspondant à des ligands des récepteurs points de contrôle du système immunitaire (CTLA4, PD1, TIM3, LAG3, TIGIT).

Les récepteurs de *check-points* immunitaires, dont fait partie le récepteur *programmed death 1* (PD1), sont des récepteurs exprimés à la surface des lymphocytes qui jouent un rôle physiologique en modulant l'activation des effecteurs lymphocytaires par rétrocontrôle négatif enfin d'éviter l'emballement du système immunitaire au cours

d'une réponse inflammatoire et de prévenir les phénomènes d'auto-immunité (Figure 4) (59). Le récepteur PD1 est une immunoglobuline de la famille des B7-CD28. Il est exprimé à la surface des lymphocytes après l'engagement du TCR au contact de la cellule tumorale. Sa liaison avec l'un de ses ligands, PDL1 ou PDL2, met en jeu la phosphatase inhibitrice SHP2 qui bloque les voies d'activation lymphocytaire Pi3k-AKT-mTOR et MAPkinases, ce qui entraîne l'inhibition de la capacité de prolifération et des fonctions effectrices des lymphocytes T (59).

Le *programmed death ligand 1* (PDL1), codé par le gène CD274, est le principal ligand du récepteur PD1. Il s'agit d'une protéine transmembranaire qui est exprimé à l'état physiologique par les lymphocytes mais aussi par d'autres cellules immunitaires ou non-immunitaires. Les cellules tumorales ou du stroma tumoral peuvent également exprimer le PDL1 et mettre de ce fait en jeu l'axe PD1/PDL1 (Figure 4) (59).



Plusieurs facteurs constitutifs ou adaptatifs stimulent l'expression de PDL1 dans les CBNPC tels que :

- Les mutations activatrices du gène KRAS au travers des voies de signalisation Pi3k-AKT-mTOR et JAK-STAT,
- Les mutations inactivatrices de PTEN qui entraînent une dérégulation de la voie Pi3k-AKT-mTOR,
- Les mutations inactivatrices de TP53, BRCA ou ATM qui entraînent une accumulation de dommages de l'ADN et par ce biais une stimulation de STING (*stimulator of interferon genes*) et de IRF3 (*interferon regulatory factor 3*) qui activent CD274,
- Les amplifications du gène CD274,
- Les cytokines pro-inflammatoires tels que l'IFN- γ à travers l'interaction de l'IRF1 (*interferon regulatory factor 1*) avec le promoteur de CD274
- Les facteurs de croissance comme le TGF- β via la déméthylation du promoteur de CD274 ou l'activation de NF- κ B
- L'hypoxémie au sein du microenvironnement tumoral par le biais du facteur induit par l'hypoxémie HIF α ,
- La chimiothérapie ou la radiothérapie du fait d'une augmentation des dommages de l'ADN (61).

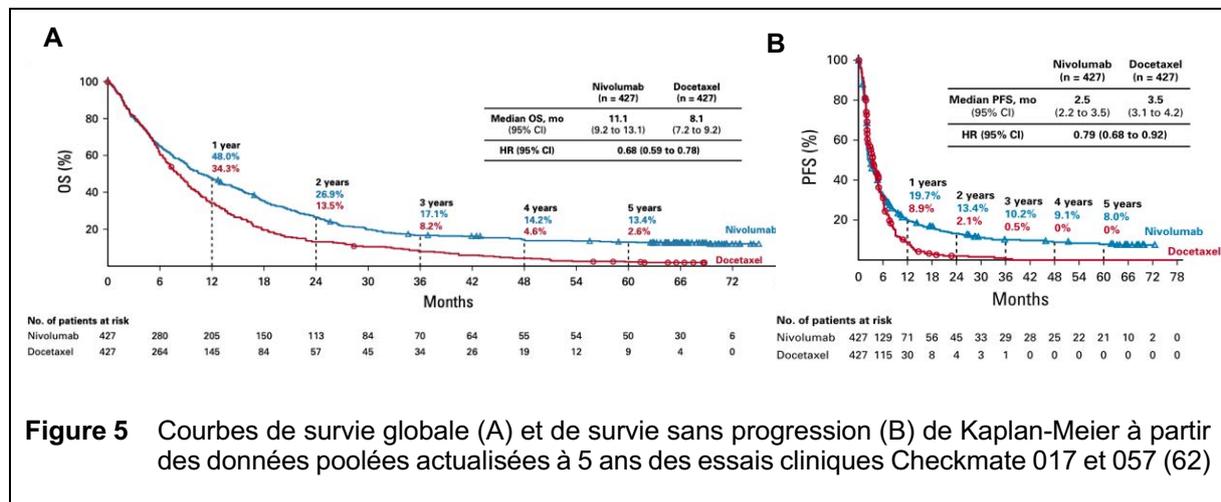
A l'inverse, les mutations inactivatrices de STK11 (*serine/threonine kinase 11*) et les cytokines anti-inflammatoires comme IL-10 inhibent l'expression de PDL1.

Le taux d'expression de PDL1 par les cellules tumorales, qui est évalué par immunohistochimie, est utilisé en routine pour guider les décisions thérapeutiques.

Au travers des essais cliniques Checkmate 017 (CBNPC épidermoïdes) et Checkmate 057 (CBNPC non-épidermoïdes), le nivolumab est le premier des ICI à avoir démontré son efficacité chez des patients atteints de CBNPC. Ces deux essais, comparant le nivolumab au docetaxel chez des patients atteints de CBNPC en 2^e ligne de traitement, quel que soit le taux d'expression de PDL1, ont montré une amélioration de SG de 3 mois dans le bras nivolumab (SGm de 9,2 mois versus 6 mois ; HR 0,62 [IC 95% 0,48-0,79] pour les patients atteints d'un CBNPC épidermoïde et SGm de 12,2 mois versus 9,5 mois ; HR 0,70 [0,58-0,83] pour les CBNPC non-épidermoïdes).

Sur la base de ces données, le nivolumab est indiqué depuis 2015 dans les CBNPC de type épidermoïde et depuis 2016 dans les CBNPC non-épidermoïdes, après une chimiothérapie première et quel que soit le taux de PDL1 (10).

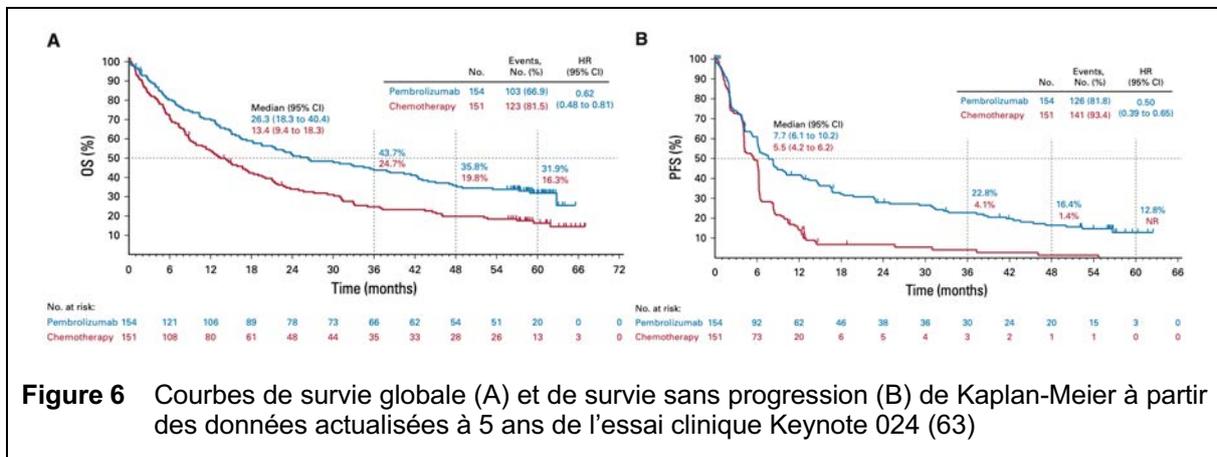
Les données poolées actualisées à 5 ans des essais CheckMate 017 et 057 ont montré qu'une sous-population de patients tirent un bénéfice prolongé de l'immunothérapie qui se traduit par un plateau de la courbe de survie de Kaplan-Meier (Figure 5) (62).



L'efficacité de l'immunothérapie en 2^e ligne de traitement a été confirmée avec l'atezolizumab et le pembrolizumab qui disposent également d'une AMM dans cette indication (quel que soit le PDL1 pour l'atezolizumab et si PDL1 ≥ 1% pour le pembrolizumab) (10).

L'essai clinique Keynote 024 a par la suite démontré l'efficacité du pembrolizumab par rapport à la chimiothérapie chez des patients non préalablement traités et présentant une expression de PDL1 $\geq 50\%$ (SGm de 26,3 mois versus 13,4 mois ; HR 0,62 IC 95% [0,48-0,81] et SSPm de 7,7 mois versus 5,5 mois ; HR 0,50 [0,39-0,65]) (63)

Sur la base de ces résultats, le pembrolizumab a obtenu en 2017 une AMM en monothérapie dans le traitement de 1^{ère} ligne des patients atteints d'un CBNPC métastatique dont les tumeurs expriment PDL1 $\geq 50\%$, sans mutation EGFR ou réarrangement ALK.



Le bénéfice en SG du pembrolizumab chez les patients exprimant le PDL1 $\geq 50\%$ a été confirmé par l'essai clinique Keynote 042 qui comparait le pembrolizumab à la chimiothérapie dans une population élargie de patients avec un taux d'expression de PDL1 $\geq 1\%$. En revanche, chez les patients avec un taux de PDL1 compris entre 1 et 49%, la SG était comparable dans le groupe pembrolizumab et dans le groupe chimiothérapie (SGm de 13,4 mois versus 12,1 mois ; HR 0,92 [95% IC 0,77-1,11]). Par ailleurs, contrairement à l'essai Keynote 024, la SSP et le taux réponse étaient similaires dans les deux bras de traitement chez les patients exprimant fortement le PDL1 $\geq 50\%$ (64). L'absence de corrélation entre bénéfice en SG et bénéfice en SSP sous ICI est maintenant bien décrite et s'explique d'une part par la survenue d'une

pseudo-progression chez certains patients (5-10% environ) et d'autre part par la possibilité d'un maintien d'un bénéfice clinique même en cas de progression morphologique confirmée (65,66).

Si l'immunothérapie laisse entrevoir la possibilité d'un contrôle de la maladie à long terme, l'efficacité des ICI est en réalité hétérogène. En outre, l'immunothérapie peut être délétère pour une sous-population de patients atteints de CBNPC non-épidermoïde avec une proportion de décès supérieure dans les 3 premiers mois de traitement en comparaison à la chimiothérapie qui se traduit par un croisement des courbes de survie de Kaplan-Meier. Ce phénomène peut s'expliquer par l'absence d'efficacité de l'immunothérapie et/ou par la survenue d'une hyper-progression chez certains patients (62,67). A l'inverse, un sous-groupe de patients, appelés longs-répondeurs, tirent un bénéfice prolongé des ICI. Les résultats actualisés des différents essais princeps montrent que la proportion de patients prétraités vivants à 5 ans est de l'ordre de 13 à 16% (62,68).

La mise en évidence de ces profils de réponses discordants vis-à-vis des ICI a amené à la recherche de biomarqueurs prédictifs de réponse permettant de sélectionner les patients susceptibles de répondre aux anti-PD(L)1.

D. Les facteurs histo-moléculaires prédictifs de réponse à l'immunothérapie

1. L'expression de PDL1

Le taux d'expression de PDL1 par les cellules tumorales constitue le biomarqueur de réponse aux anti-PD(L)1 le plus établi. De nombreuses études cliniques ont en effet rapporté une corrélation entre l'expression de PDL1 et la réponse aux ICI (63, 69–71).

Cependant, le taux d'expression de PDL1 est aussi un biomarqueur imparfait pour plusieurs raisons.

L'expression de PDL1 est hétérogène dans l'espace, que ce soit au sein même de la tumeur ou entre la lésion primaire et les lésions secondaires (71). Elle est également variable dans le temps et influencée par les traitements anti-cancéreux (72).

Par ailleurs, le PDL1 n'est pas uniquement exprimé par les cellules tumorales mais aussi par les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral. Le taux d'expression de PDL1 par les cellules immunitaires infiltrant la tumeur a été évalué dans les essais POPLAR et OAK. Dans ces deux essais, respectivement de phase II et III, les patients qui présentaient expression forte de PDL1 ($\geq 50\%$) par la tumeur ou par les cellules immunitaires infiltrant la tumeur ($\geq 10\%$) tiraient un bénéfice supérieur de l'atezolizumab en comparaison au docetaxel (65,73).

En outre, l'expression de PDL1 est imparfaitement corrélée à la réponse aux ICI. Dans l'essai clinique Keynote 024, plus d'un tiers des patients traités par pembrolizumab ont présenté une progression de leur maladie ou sont décédés à 6 mois (74). A l'inverse, les patients qui n'expriment pas le PDL1 peuvent tirer un bénéfice prolongé des ICI. C'est notamment ce qu'ont montré les essais Checkmate 017 et 057 avec des taux de SG de 24% à 2 ans et de 8% à 5 ans chez les patients n'exprimant pas le PDL1 (62). Les essais POPLAR et OAK ont montré des résultats similaires chez les patients présentant un taux d'expression de PDL1 par la tumeur et par les cellules immunitaires infiltrant la tumeur $< 1\%$ (taux de SG à 4 ans de 14 et 15%) (75).

Enfin, d'autres voies immunitaires inhibitrices peuvent affecter la réponse au traitement par les ICI, notamment TIM3, LAG3 et VISTA (59).

D'autres biomarqueurs de réponses comme la charge mutationnelle tumorale ou l'infiltrat en lymphocyte CD8+ au sein du microenvironnement tumoral ont ainsi été étudiés.

2. La charge mutationnelle tumorale

La charge mutationnelle tumorale (*tumor mutationel burden*, TMB), exprimée en nombre de mutations par mégabase d'ADN, est définie comme la densité de mutations au sein des séquences codantes du génome tumoral. Il a été montré qu'elle constitue un marqueur prédictif de réponse aux ICI dans différents cancers, y compris dans les CBNPC (70,76).

La corrélation entre TMB et immunogénicité tumorale s'explique par le fait que l'accumulation de mutations au sein de l'ADN tumoral s'accompagne d'une augmentation du nombre de néo-antigènes tumoraux potentiellement immunogènes et donc d'une augmentation de la réponse immunitaire antitumorale (77). Le nombre de mutations somatiques au sein des tumeurs est variable en fonction des cancers, les charges mutationnelles les plus faibles étant observées dans les tumeurs pédiatriques et les hémopathies et les plus élevées dans les mélanomes et cancers broncho-pulmonaires, de manière cohérente avec une exposition chronique à des agents carcinogènes (UV et tabac respectivement). Au sein même des cancers pulmonaires, la charge mutationnelle peut varier de 0,1 à 100 m/Mb en fonction du statut tabagique, les patients non-fumeurs présentant une charge mutationnelle plus faible (78). Outre l'exposition aux agents carcinogènes tels que le tabac, la charge mutationnelle est influencée par des mutations dans les gènes impliqués dans la réparation de l'ADN (78).

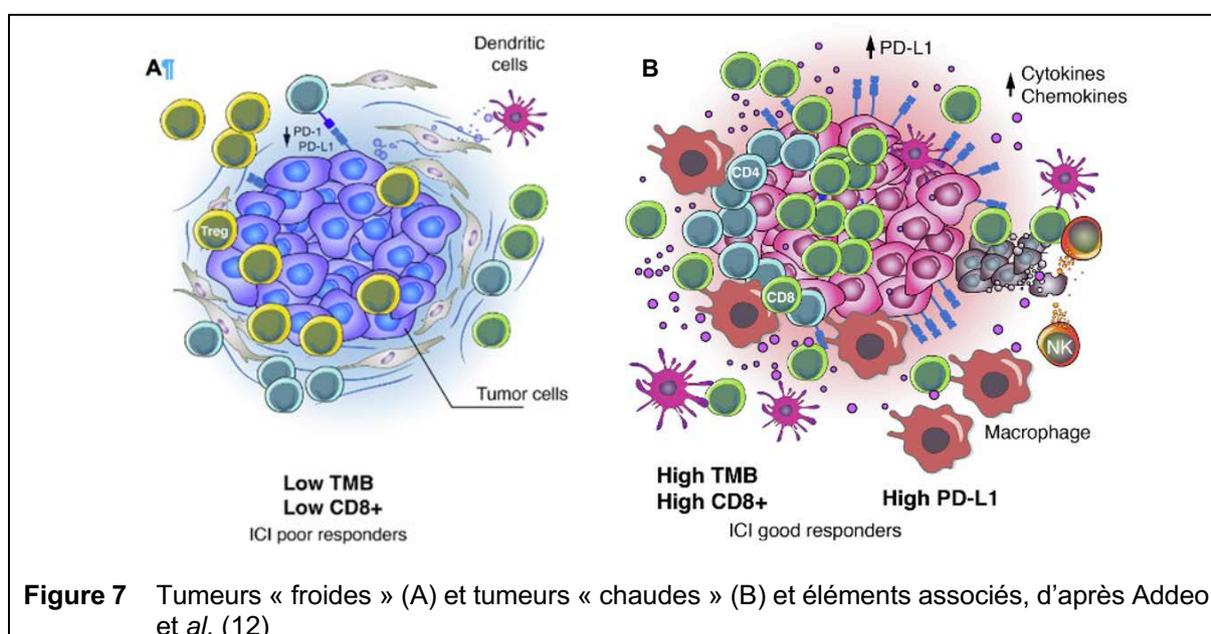
Le TMB a été évalué dans l'essai Checkmate 227 pour prédire la réponse à l'association ipilimumab – nivolumab en 1^{ère} ligne de traitement chez des patients atteints d'un CBNPC avancé quel que soit le taux de PDL1. Une charge mutationnelle élevée, définie comme ≥ 10 m/Mb, était associée à une amélioration significative de la SSP par rapport à la chimiothérapie (SSPm de 7,2 mois versus 5,5 mois ; HR 0,58 [IC 95% 0,41-0,81]), y compris chez les patients n'exprimant pas le PDL1. A l'inverse, chez les patients avec une charge mutationnelle < 10 m/Mb, la double immunothérapie ne conférait pas de bénéfice en SSP en comparaison à la chimiothérapie.

Le rôle du TMB, en tant que biomarqueur de réponse aux ICI, reste néanmoins incertain au regard des données de SG. En effet, l'association ipilimumab – nivolumab était associée à une amélioration significative de la SG quel que soit la charge mutationnelle (HR 0,75 [IC 95 % 0,59-0,94] dans le groupe TMB < 10 m/Mb et HR 0,68 [0,51-0,91] dans le groupe TMB ≥ 10 m/Mb). Les analyses en sous-groupe en fonction du statut PDL1 montrent que le TMB semblerait toutefois intéressant chez les patients n'exprimant pas le PDL1 (80). De manière similaire, Kowanetz *et al.* ont montré, à partir des données des essais POPLAR (atezolizumab versus docetaxel dans les CBNPC avancés en 2^e ou 3^e ligne, quel que soit le taux de PDL1) et BIRCH/FIR (atezolizumab en 1^{ère} ou 2^e ligne dans les CBNPC avancés avec expression de PDL1 $\geq 5\%$), que le TMB est significativement associé à la SSP mais pas à la SG (81).

La généralisation de l'utilisation du TMB est par ailleurs gênée par l'absence de consensus concernant les valeurs seuils et les techniques utilisées dans les différentes études. Une autre limite importante découle de la technique d'évaluation en elle-même (absence de techniques et de valeur seuils standardisées, délai de rendu des résultats, coût, etc.). Du fait de ces différents écueils, le TMB n'a, à ce jour, pas sa place en routine.

3. Les lymphocytes infiltrant la tumeur

Parmi les nombreux sous-types de cellules immunitaires infiltrant les tumeurs, les lymphocytes T CD8+ sont ceux qui ont le plus fort impact sur la survie (82). La valeur pronostique de la densité en lymphocytes T CD8+ au sein de tumeur, évaluée par immunohistochimie, a été démontrée dans les CBNPC mais aussi dans d'autres cancers (83). On distingue ainsi classiquement les « tumeurs chaudes », riches en lymphocytes et associées à de meilleures réponses, des tumeurs « froides » de plus mauvais pronostic (Figure 7).



Dans les CBNPC, Gataa et al. ont montré qu'une densité forte en lymphocytes infiltrant la tumeur (LIT) $\geq 10\%$ du stroma tumoral était associée à une amélioration significative de la SG (HR 0,48 [IC 95% 0,28-0,81]) et de la SSP (HR 0,40 [0,25-0,63]) chez des patients traités par ICI. Dans cette étude, les patients non-fumeurs étaient plus nombreux dans le groupe LIT $< 10\%$ (19% versus 4.1%). De manière intéressante, aucun patient avec une mutation EGFR, ALK, BRAF ou ROS1 ne présentait une densité élevée de LIT alors que les patients KRAS étaient uniformément répartis dans les deux groupes (84). Une autre étude rétrospective a montré qu'un nombre de

lymphocytes T CD8+ au sein du stroma tumoral $> 886 / \text{mm}^3$ était associé à un taux de réponse plus élevé par rapport à une infiltration plus faible $\leq 886 / \text{mm}^3$ (60% versus 16.7%, $p = 0.017$) (85).

Cependant, l'évaluation des lymphocytes CD8+ infiltrant la tumeur ne permet pas de refléter à elle seule toute la complexité de la réponse immunitaire antitumorale, de nombreux autres effecteurs cellulaires pro-inflammatoires (lymphocytes CD4+ TH1, cellules dendritiques, cellules NK, macrophages de type 1) ou anti-inflammatoires (MDSCs [*myeloid-derived suppressor cells*], lymphocytes T régulateurs, macrophages de type M2) entrant également en jeu (82). En outre, les cellules T peuvent subir des altérations fonctionnelles au sein du micro-environnement tumoral, connues sous le nom d'épuisement lymphocytaire, médiées par PD1 mais aussi LAG3 et TIM3 (86). Ainsi, plusieurs tests immunohistochimiques multiparamétriques sont actuellement à l'étude dans différents cancers y compris dans les CBNPC afin d'aider à mieux discriminer les patients susceptibles de répondre aux ICI.

4. Les drivers oncogéniques

Les données des analyses en sous-groupes de plusieurs essais cliniques ont révélé que les patients présentant une mutation de l'EGFR ou un réarrangement de ALK ne tiraient pas bénéfice des ICI en monothérapie. Dès lors, la place de l'immunothérapie chez les patients présentant une altération oncogénique ciblable s'est présentée comme une importante question de recherche. Des études rétrospectives de grande ampleur ont notamment montré que le profil de réponse à l'immunothérapie diffère en fonction du type d'altération oncogénique.

a. Les mutations de l'EGFR

La plupart des essais cliniques princeps qui concernent les ICI ont exclu les patients présentant une mutation de l'EGFR. C'est notamment le cas des essais Keynote 042 et Keynote 024 (63,64). Parmi les essais Checkmate 057, Keynote 010 et OAK, aucun n'a montré de bénéfice en SG à l'emploi d'un anti-PD(L)1 en 2^e ligne ou plus par rapport à une chimiothérapie par docetaxel dans le sous-groupe des patients avec mutation de l'EGFR (61,65,68). Ces résultats ont été confirmés par une analyse poolée des données issues de ces 3 essais cliniques (88). Une autre analyse poolée regroupant les essais Checkmate 057, Keynote 010, POPLAR et OAK a, de surcroît, montré que l'immunothérapie était délétère sur la SSP chez ces patients (HR 1,44 [IC 95% 1,05-1,98]) (89). En outre, un essai de phase II ayant pour but d'étudier l'efficacité du pembrolizumab chez les patients avec mutation EGFR exprimant le PDL1 a dû être arrêté prématurément pour futilité (90). Les résultats d'un essai randomisé de phase II, ayant comparé le nivolumab à la chimiothérapie par carboplatine – pemetrexed chez des patients avec mutation de l'EGFR prétraités par ITK ont montré une absence de bénéfice sur la SG (SGm de 20,7 versus 19,9 mois ; HR 0,88 [IC 95% 0,53-1,47]) et un effet péjoratif sur la SSP (SSPm de 1,7 mois versus 5,6 mois ; HR 1,02 [IC 60% 1,61-2,29]) (91).

Plusieurs études de vie réelle plaident également pour un manque d'efficacité des ICI chez les patients avec mutation de l'EGFR. Les données de ces différentes études sont résumées dans le Tableau 2. Parmi les CBNPC avec altérations KRAS, BRAF, MET, ALK, ROS1, RET et HER2, les mutations EGFR sont celles qui présentaient les résultats les plus péjoratifs dans deux études de cohortes de grande ampleur menées par Mazières et *al.* (cohorte Immunotarget) et Negrao et *al.* (cohortes MDACC et CGDB immunotherapy) (92,93).

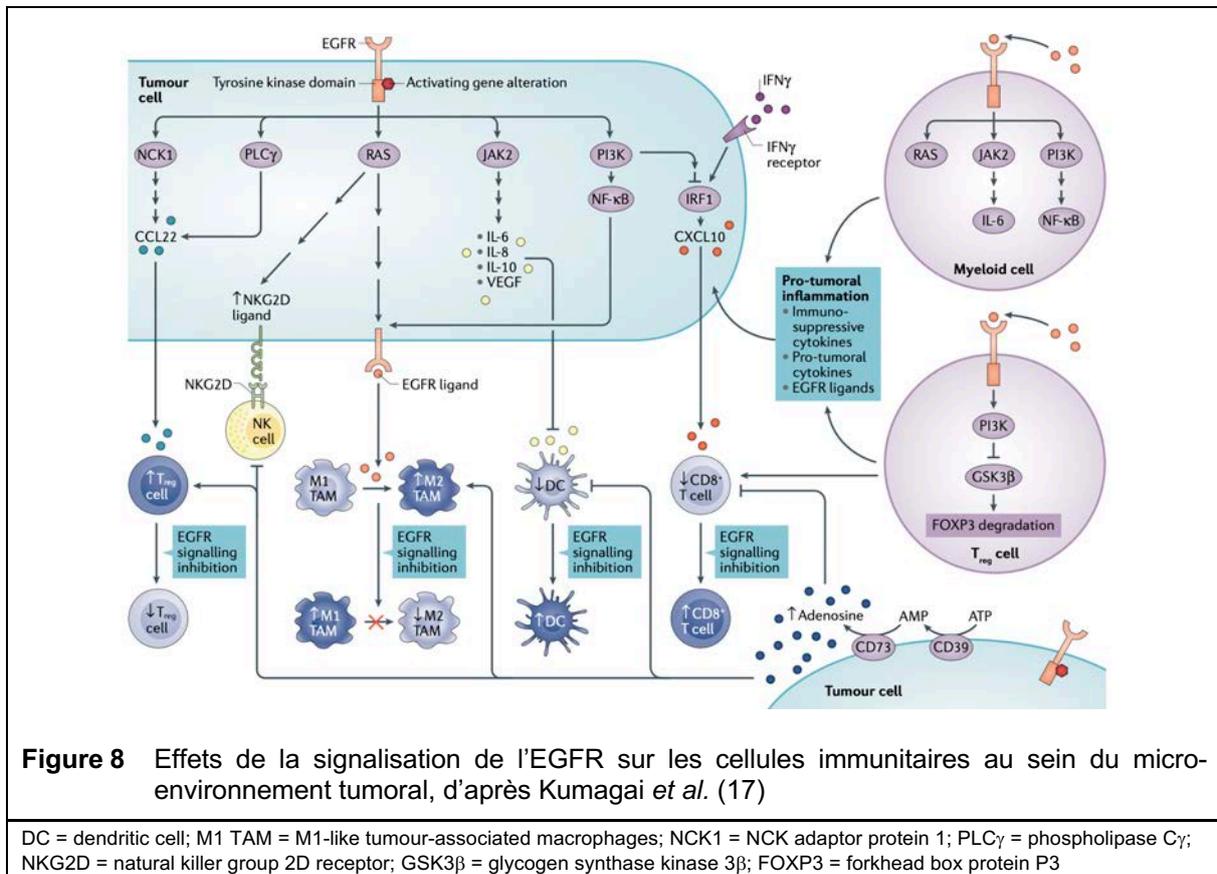
Tableau 2 : Études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI chez les patients avec mutations EGFR

Études	Population	Expression de PDL1, %	SSPm, mois (IC 95%)	TRO, %
Garassino et al., 2018 (94)	EGFR, n = 102 versus WT, n = 1293		3,0 versus 3,0 (HR 1,38 [IC 95% 1,1-1,7])	9% versus 20%
Mazières et al., 2019 (92)	EGFR, n=125	< 1% : 37% ≥ 50% : 28%	2,1 (1,8-2,7)	12%
Morita et al., 2020 (95)	EGFR, n = 116 versus WT, n = 641		1,5 versus 2,3 (HR 1,74 [IC 95% 1,4-2,2])	9% versus 23%
Bylicki et al., 2020 (96)	EGFR, n = 42		2,2 (1,4-3,2)	
Yamada et al., 2021 (97)	EGFR, n = 27	< 1% : 22% ≥ 50% : 22%	1,9 (0,3-20,4)	22%
Lau et al., 2021(98)	EGFR exon19del ou L858R, n = 28	< 1% : 23% ≥ 50% : 38%	1,7 (1,1-2,1)	11%
Negrao et al., 2021(93) Cohorte MDACC	EGFR exon19del ou L858R, n= 28		1,8 (1,2-2,4)	4%
Negrao et al., 2021(93) Cohorte CGDB	EGFR exon19del ou L858R, n= 54		2,5 (1,8-3,1)	

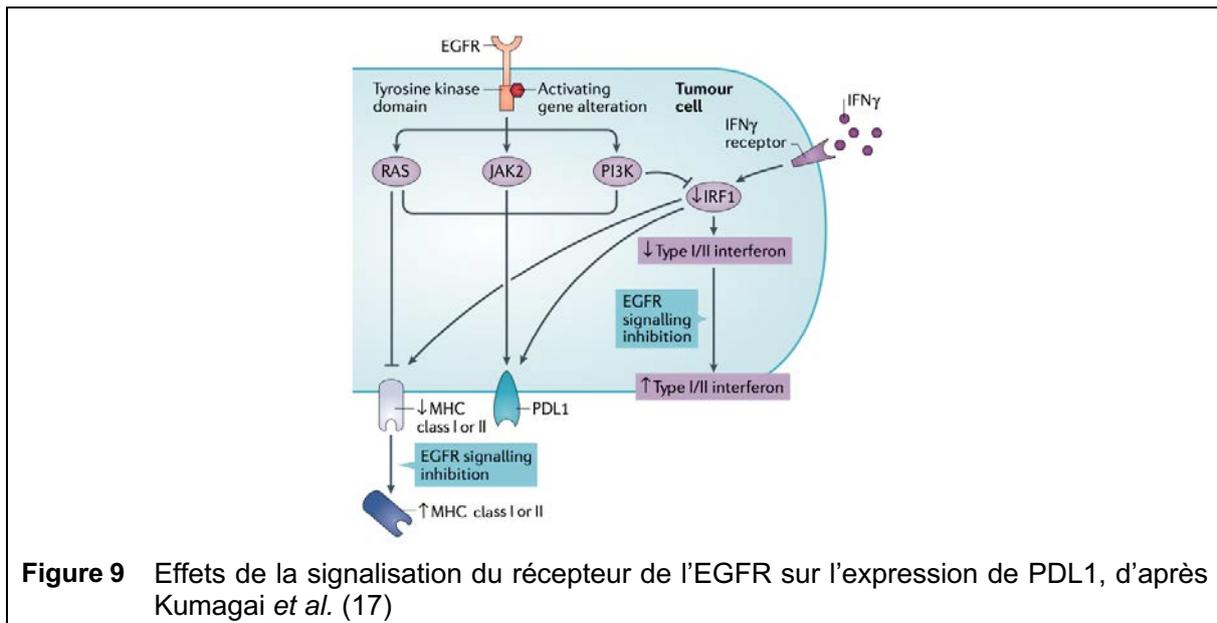
Le manque d'efficacité des ICI en cas de mutation EGFR s'explique par le fait que ces tumeurs sont associées à un micro-environnement « froid » qui est lui-même lié à une faible charge tumorale. La corrélation entre mutations EGFR et TMB bas est le reflet de la forte prévalence de patients non-fumeurs (60% environ) parmi les patients atteints de CBNPC mutés EGFR mais aussi du processus de carcinogenèse en lui-même (11,17). Les tumeurs avec mutation EGFR conditionnent également une immunosuppression au sein du microenvironnement tumoral médiée par l'activation constitutive du récepteur EGFR. La signalisation de l'EGFR entraîne notamment :

- Une inhibition de l'IRF1 (*interferon regulatory factor 1*) qui induit une baisse de CXCL10 (*C-X-C motif chemokine ligand 10*) et par ce biais une baisse de l'infiltration lymphocytaire T CD8+,
- Une accumulation d'adénosine dans le microenvironnement tumoral laquelle a pour effet d'inhiber les fonctions effectrices des lymphocytes T et NK et d'activer les lymphocytes T régulateurs et les macrophages pro-tumoraux,
- Une hausse du CCL22 (*chemokine ligand 22*) qui augmente le recrutement des lymphocytes T régulateurs,
- Une augmentation de l'expression de cytokines pro-tumorales (IL-6, IL-8, IL-10) et une diminution de l'expression d'IFN- γ ,

- Une augmentation de l'expression des ligands de l'EGFR entretenant ces différents processus au sein du micro-environnement tumoral (17).



L'implication du marqueur PDL1 est en revanche controversée. Deux méta-analyses publiées en 2017 ont notamment rapporté des résultats contradictoires, l'une montrant une association entre mutation EGFR et expression de PDL1 et l'autre pas (89,99). L'expression de PDL1 par les tumeurs avec mutation de l'EGFR semblent être régulée par deux mécanismes opposés. Les voies de signalisation Pi3k-Akt-mTOR, RAS-RAF-MET-ERK et JAK-STAT activent l'expression de PDL1 tandis que, la baisse de l'IRF1 induite par Pi3k l'inhibe. Par ailleurs, les interactions déficientes entre les cellules tumorales et le système immunitaire pourraient altérer l'expression inducible de PDL1 qui se produit habituellement lors d'une réaction inflammatoire.



L'utilisation du PDL1, pris isolément, pourrait néanmoins rester intéressant pour prédire la réponse aux anti-PD(L)1 chez les patients avec altérations EGFR. Dans l'essai de phase III Atlantic, qui a étudié l'efficacité du durvalumab chez des patients prétraités, le taux de réponse était de 12 % lorsque le PDL1 était ≥ 25 % dans le sous-groupe des patients EGFR et ALK, alors qu'il n'était que de 3,6% lorsque le PDL1 était $< 25\%$ (100). L'étude Immunotarget a par ailleurs montré que le statut PDL1 était corrélé à une meilleure SSP dans le sous-groupe des patients EGFR.

La place de l'immunothérapie est donc restreinte en cas de mutation de l'EGFR et ne semble devoir être envisagée en monothérapie qu'après épuisement des autres stratégies thérapeutiques. Néanmoins, certains patients porteurs d'une mutation EGFR peuvent tirer un bénéfice prolonger des ICI (101).

b. Les réarrangements ALK, ROS1 et RET

Les données concernant l'efficacité des ICI en cas CBNPC avec réarrangements ALK, ROS1 ou RET sont rares et concernent de petits effectifs de patients (Tableau 3). Elles suggèrent néanmoins, de façon concordante, une faible efficacité des ICI chez ces

patients, comparable à celle observée chez les patients EGFR (Tableau 2). Cette faible immunogénicité semble également s'expliquer par leur association au statut non-fumeur, à une faible infiltration lymphocytaire et à un TMB bas (93,102,103). L'expression de PDL1 est aussi variable selon les études (102,104).

Tableau 3 : Études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI chez les patients avec réarrangements ALK, ROS1 ou RET				
Études	Population	Expression de PDL1, %	SPPm, mois (IC 95%)	TRO, %
Dudnik <i>et al.</i> , 2018 (105)	ROS1, n = 1		0,1	0%
	RET, n = 1		6,9	0%
Mazières <i>et al.</i> , 2019 (92)	ALK, n = 29	< 1% : 36,4% ≥ 50% : 40%	2,5 (1,5-3,7)	0%
	RET, n = 16	< 1% : 25% ≥ 50% : 50%	2,1 (1,3-4,7)	6%
	ROS1, n = 7	< 1% : 0% ≥ 50% : 60%		17%
Offin <i>et al.</i> , 2019 (103)	RET, n = 16	< 1% : 58% ≥ 50% : 23%	3,4 (2,1-5,6)	0%
Negrao <i>et al.</i> , 2021(93) Cohorte MDACC	ALK/RET, n= 29		2,73 (1,6-5,3)	
Lee <i>et al.</i> , 2020 (106)	RET, n = 13		2,1 (2,6-2,6)	12%
Guisier <i>et al.</i> , 2020 (107)	RET, n = 9	< 1% : 62% ≥ 50% : 25%	7,6 (2,3-NR)	38%

c. Les mutations de l'HER2

Les patients porteurs d'une mutation de l'HER2 ne semblent également tirer que peu de bénéfice des ICI avec une SSPm entre 2 et 3 mois selon les études (Table 4). La faible immunogénicité des tumeurs avec mutation de l'HER2 est elle aussi corrélée au statut non-fumeur, à une faible expression de PDL1 et à un TMB bas (93,108). De manière similaire à ce qui a été observé avec les mutations EGFR, les altérations HER2 conditionnent un micro-environnement tumoral « froid » par le biais de l'activation de la voie Pi3K-AKT-mTOR. L'activation d'HER2 induit par ailleurs une baisse de STING qui induit une inhibition de l'expression et la signalisation des interférons mais aussi une baisse de l'expression de diverses cytokines pro-inflammatoires (17).

Tableau 4 : Études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI chez les patients avec mutations HER2

Études	Population	Expression de PDL1, %	SSPm, mois (IC 95%)	TRO, %
Dudnik et al., 2018 (105)	HER2, n = 7	<1% : 11% ≥ 50% : 0%	3,4 (2,4-8,5)	14%
Mazières et al., 2019 (92)	HER2, n = 29	<1% : 47% ≥ 50% : 0%	2,5 (1,8-3,5)	7%
Guisier et al., 2020 (107)	HER2, n = 23	<1% : 50% ≥ 50% : 13%	2.2 (1,7-15,2)	27%
Chen et al., 2021 (108)	HER2 exon 20, n = 6	<1% : 81% ≥ 50% : NC		0%
Negrao et al., 2021(93) Cohorte MDACC	HER2, n= 15		1,9 (1,6-2,1)	8%
Negrao et al., 2021(93) Cohorte CGDB	HER2, n= 21		3,0 (1,81-NR)	
Lau et al., 2021(98)	HER2, n= 14	<1% : 38% ≥ 50% : 23%	3,6 (1,6-NR)	29%
Saalfeld et al., 2021 (109)	HER2, n = 34		4	16%

d. Les mutations de BRAF

L'efficacité des ICI dans les CBNPC avec mutation de BRAF n'a pas non plus été étudiée dans les essais cliniques. Même si les résultats sont variables, plusieurs études rétrospectives ont observé des réponses intéressantes qui plaident en faveur de l'utilisation de l'immunothérapie dans cette population (Tableau 5). Negrao et al. ont, en outre, montré que le sous-groupe des mutations BRAF est celui qui présente la meilleure SSP et la meilleure SG, par rapport aux autres altérations génétique et notamment par rapport aux mutations KRAS.

Tableau 5 : Études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI chez les patients avec mutations BRAF

Études	Population	Expression de PDL1, %	SSPm, mois (IC 95%)	TRO, %
Dudnik et al., 2018 (110)	V600E, n = 12	<1% : 26% ≥ 50% : 42%	3,7 (1,6-6,6)	25%
	Non V600E, n = 10	<1% : 40% ≥ 50% : 50%	4,1 (0,1-19,6)	33%
Dudnik et al., 2018 (105)	V600E, n = 4	<1% : 25% ≥ 50% : 25%	1,5 (1,2-8,3)	25%
	Non V600E, n = 5	<1% : 40% ≥ 50% : 60%	2,6 (2,0-4,2)	20%
Mazières et al., 2019 (92)	n = 43	<1% : 30% ≥ 50% : 56%	3.1 (1,8-4,6)	24,3%
	V600E, n = 17 Non V600E, n = 26		1,8 4,1	
Guisier et al., 2020 (107)	V600E = 26	<1% : 21% ≥ 50% : 71%	5,3 (2,1-NR)	26%
	Non V600E, n = 18	<1% : 39% ≥ 50% : 29%	4,9 (2,3-NR)	35%
Mu et al. 2020 (111)	n = 9		3,0 (2,9-3,1)	25%
Negrao et al., 2021(93) Cohorte MDACC	n = 10		7,4 (NE)	62%
Negrao et al., 2021(93) Cohorte CGDB	V600E, n = 30		9,79 (7,59-NR)	
	Non V600E, n = 35		5,42 (2,96-17,28)	

Une forte prévalence de l'expression de PDL1 a été observée dans ces différentes études que ce soit dans le sous-groupe V600E que dans le sous-groupe non-V600E. Dans l'étude menée par Negrao et *al.* les mutations BRAF V600E étaient associées à une faible charge tumorale (TMB médian à 2,61 M/mb, TMB \geq 16 M/mb dans 4% des cas) tandis que les CBNPC avec mutations BRAF non V600E présentaient un TMB plus élevé (TMB médian à 9,57 M/mb, TMB \geq 16 M/mb dans 34% des cas) (93).

Dans les mélanomes métastatiques avec mutations de BRAF, pour lesquels l'efficacité des ICI a largement été démontrée, l'activation de la voie des MAPkinases est associée la production de cytokines pro-tumorales (IL-6, IL-10) et à la régulation négative du CMH I ce qui entraîne une altération de la maturation des cellules dendritiques, une diminution des propriétés effectives des lymphocytes T et une augmentation du recrutement des MDSCs et des lymphocytes T régulateurs. Il a par ailleurs été montré que les inhibiteurs de BRAF permettent de restaurer la réponse immunitaire antitumorale (112). Tenant compte des effets immunomodulateurs des inhibiteurs de BRAF/MEK, différents schémas séquentiels ou combinés sont actuellement à l'étude dans les mélanomes métastatiques avec mutations BRAF (113,114).

e. Les mutations du site d'épissage de l'exon 14 de MET

Plusieurs modèles expérimentaux suggèrent que l'axe MET/HGF puisse jouer un rôle immunosuppresseur au sein du micro-environnement tumoral. Il a notamment été montré in vitro que l'activation de MET stimule l'expression de PDL1 mais également celle de l'IDO (*indoleamine 2,3-dioxygénase*) qui exerce un effet immunosuppresseur sur les lymphocytes T et les cellules NK. L'HGF semble par ailleurs exercer un effet freinateur sur la réponse lymphocytaire T en favorisant l'expansion des lymphocytes T

régulateurs, des cellules dendritiques tolérogènes et des MDSCs et en diminuant l'expression de cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IFN- γ , IL-12 et IL-17) au profit des cytokines immunomodulatrices (IL-10, IL-4 et TGF- β) (31).

Plusieurs études rétrospectives ont montré que les mutations de l'exon 14 de MET sont associées à un niveau d'expression de PDL1 élevé. Elles semblent en revanche corrélées à une charge tumorale basse < 10 m/Mb (93,115) .

Cependant, les ICI semblent avoir une efficacité intéressante en cas de mutation de l'exon 14 de MET même si les données proviennent aussi d'études rétrospectives aux effectifs restreints (Tableau 6). Mayenga et *al.* ont rapporté des réponses prolongées \geq 18 mois chez 6/13 patients traités par ICI en 2^e ligne avec des SSP allant de 18 à 49 mois. Le taux d'expression de PDL1 allait de 0 à 90% et le TMB de 1,5 à 10,5 m/Mb chez ces patients. Mazières et *al.* ont également observé une réponse favorable avec un taux de SPP à 12 mois de 23%.

Les patients avec amplification de MET semblent également tirer bénéfice des ICI, sous réserve de données limitées (Tableau 6) (116).

L'impact de la surexpression de MET sur l'efficacité des ICI n'a, à ce jour, pas été étudié à notre connaissance.

Tableau 6 : Études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI chez les patients avec altérations de MET				
Études	Population	Expression de PDL1, %	SSPm, mois (IC 95%)	TRO, %
Sabari et <i>al.</i> , 2018 (115)	Mutations MET exon 14, n = 24	<1% : 37% ≥ 50% : 41%	1,9 (1,7-2,7)	17%
Dudnik et <i>al.</i> , 2018 (105)	Mutations MET exon 14, n = 8	<1% : 22% ≥ 50% : 67%	4,0 (2,4-NR)	12%
	Amplifications MET, n = 4		4,9 (2,4-NR)	25%
Guisier et <i>al.</i> , 2020 (107)	Mutations MET, n = 30	<1% : 8% ≥ 50% : 79%	4,9 (2,0-11,4)	36%
Mazières et <i>al.</i> , 2019 (92)	Mutations MET et amplifications MET, n = 23	<1% : 25% ≥ 50% : 47 %	3,4 (1,7-6,2)	16%
Negrao et <i>al.</i> , 2021(93) Cohorte CGDB	Mutations MET exon 14, n = 34		2,69 (1,97-NR)	

f. Les mutations KRAS

L'efficacité des ICI dans les CBNPC avec mutations KRAS a été plus largement étudiée. Si les mutations KRAS constituent un facteur de mauvais pronostic vis-à-vis des chimiothérapies cytotoxiques, les données de la littérature montrent qu'elles sont positivement corrélées à la SSP et à la SG en ce qui concerne les traitements par anti-PD(L)1 (117,118).

L'impact positif des mutations KRAS vis-à-vis de la réponse à l'immunothérapie a dans un premier temps été rapporté dans l'essai clinique princeps Chekmate 057 (87). Une analyse exploratoire des données de l'essai Keynote 042 a également montré un bénéfice net de l'immunothérapie en comparaison à la chimiothérapie chez les patients avec mutation KRAS (SSPm de 12 mois versus 6 mois ; HR 0,51 [IC 95% 0,29-0,87] et SGm de 28 mois versus 11 mois ; HR 0,42 [0,22-0,81]) (119). Ces résultats ont été confirmés par deux méta-analyses montrant un bénéfice plus important des ICI chez les patients avec mutation KRAS par rapport aux patients KRAS sauvage, en 1^{ère} et en 2^e ligne (117,120).

Des résultats plus modestes sont retrouvés dans les études de cohortes par Mazières *et al.* et Negrao *et al.* avec une SSP médiane autour de 3-4 mois chez des patients prétraités ou non (92,93). Les mutations KRAS restent néanmoins corrélées à de meilleures réponses en comparaison aux autres drivers oncogéniques, à l'exception des mutations BRAF dans la cohorte MDACC (93).

Ces résultats s'expliquent par le fait que les mutations KRAS sont associées à un microenvironnement tumoral immunogène avec un taux d'expression élevée de PDL1, une infiltration tumorale dense en lymphocytes T CD8+ et une charge mutationnelle élevée, qui traduit leur très forte association épidémiologique avec le tabagisme (77,93,121).

Cependant, les CBNPC avec mutations KRAS sont des tumeurs génomiquement complexes, avec une fréquence élevée de co-mutations TP53 (dans environ 45-50% des cas), STK11 (20-30%) ou KEAP1 (20%) qui influencent également la réponse aux ICI (122,123)

STK11 code pour la sérine/thréonine LKB1 qui constitue l'activateur principal de l'AMPK (*adenosine monophosphate-activated protein kinase*) laquelle joue un rôle dans divers processus impliqués dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (métabolisme cellulaire, polarité cellulaire, réponse aux lésions de l'ADN). Des mutations inactivatrices de STK11 sont retrouvées dans 8-39% des CBNPC. Elles sont associées à une mutation KRAS dans environ 52-58% des cas et à une mutation de KEAP1 dans 28% des cas (124). KEAP1 est une protéine régulatrice du facteur nucléaire NRF2 (*nuclear factor erythroid-2-related factor-2*), qui joue un rôle central dans la réponse cellulaire au stress oxydatif. Des mutations inactivatrices de KEAP1 sont retrouvées dans 11-27% des CBNPC et sont associées à une mutation KRAS dans 40-47% des cas et à une mutation STK11 dans 28% des cas (124).

Les co-mutations KRAS/STK11 et KRAS/KEAP1 sont associées à un micro-environnement tumoral « froid » caractérisé par une plus faible expression tumorale des protéines de points de contrôle immunitaire et une plus faible infiltration tumorale par les lymphocytes T CD8+ (124–126). Les co-mutations KRAS/TP53 sont, quant à elles, associées à un microenvironnement tumoral riche en cellules et cytokines pro-inflammatoires, à une plus forte expression de PDL1 et à un TMB élevé (125).

Plusieurs études ont montré de façon concordante que les co-mutations STK11 et/ou KEAP1 constituent des facteurs de mauvaise réponse aux ICI (124). Bien qu'associées à de meilleurs taux de réponse, les co-mutations TP53 ne semblent en revanche pas impacter la survie, en comparaison aux mutations KRAS seules (122).

5. Les mutations de TP53

Plusieurs travaux indiquent que les mutations de TP53, étudiées isolément, représentent un facteur prédictif de bonne réponse vis-à-vis des ICI.

TP53 est un gène suppresseur de tumeur qui contrôle le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'entrée en apoptose en réponse aux dommages de l'ADN. Les mutations de TP53 sont, dans la grande majorité, des cas des mutations ponctuelles qui entraînent un défaut de liaison de la protéine à l'ADN et conduisent à la perte de sa fonction de facteur de transcription. Elles induisent ainsi une augmentation de la charge mutationnelle au sein des cellules tumorales et stimulent l'immunogénicité tumorale en générant des néo-antigènes tumoraux (127).

Avec une prévalence de 50% environ, les mutations de TP53 constituent l'altération moléculaire la plus fréquemment retrouvée dans les CBNPC. Bien qu'observées à la fois chez les fumeurs et les non-fumeurs, leur fréquence est plus élevée dans les cancers du fumeur (127).

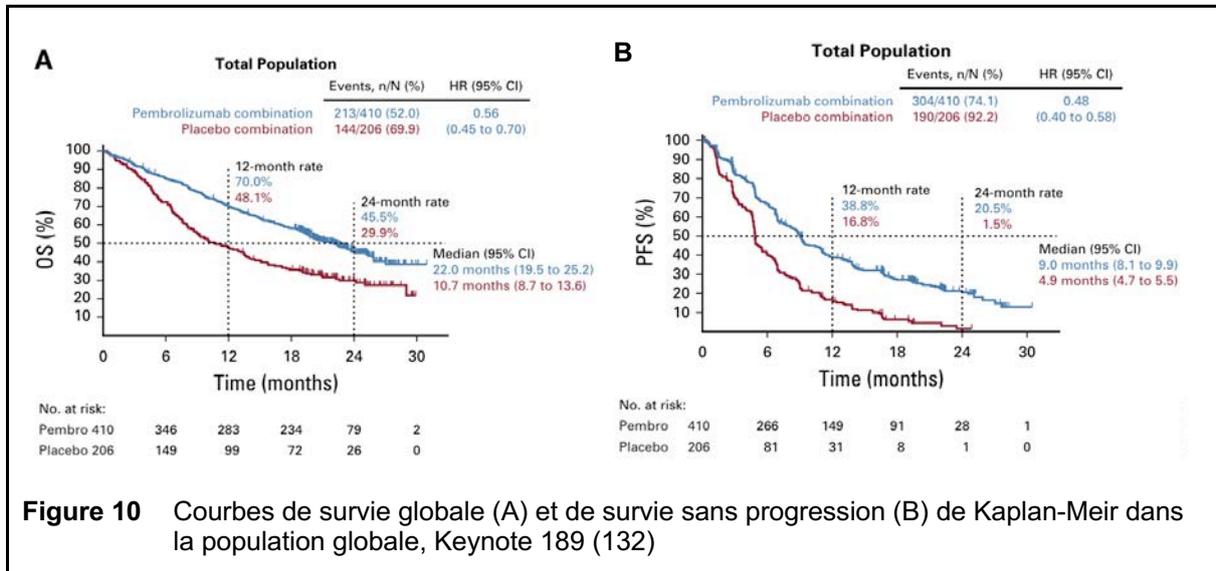
Les mutations de TP53 ont été décrites, avant l'ère de l'immunothérapie, comme un marqueur de mauvais pronostic que ce soit pour les CBNPC avancés ou localisés (128). Elles ont plus récemment été identifiées comme un facteur prédictif négatif de réponse aux TKI anti-EGFR et anti-ALK (129).

A l'inverse, les mutations TP53 semblent constituer un facteur prédictif de réponse aux ICI. Assoun et *al.* ont montré, à partir d'une série de 65 patients traités par ICI en mono- ou bithérapie, que les mutations TP53 sont indépendamment corrélées à la SG (SGm de 18,1 mois dans le groupe TP53 muté versus 8,1 mois dans le groupe TP53 sauvage ; HR 0.48 [0.25-0.95]) (130). Dong et *al.* ont également rapporté un bénéfice de SSP en cas de mutation TP53 sur une petite série de 30 patients (SSPm de 14,5 versus 3,5 mois, $p = 0,012$) (131).

E. L'association chimiothérapie et immunothérapie

1. Les essais cliniques princeps

Chez les patients naïfs de traitement atteints d'un CBNPC métastatique sans altération EGFR ou ALK, l'essai clinique Keynote 189 a montré que l'adjonction du pembrolizumab à la chimiothérapie standard par sel de platine et pemetrexed apporte un bénéfice net en SG et en SSP par rapport à la chimiothérapie seule (SGm 22,0 mois versus 10,7 mois ; HR 0,56 [IC 95% 0,45-0,70] et SSPm de 9,0 mois versus 4,9 mois ; HR 0,48 [0,40-0,58] (Figures 10). Le TRO était également significativement plus élevé dans le groupe chimiothérapie – immunothérapie (CIT) (48% versus 18% ; $p < 0,001$). Le bénéfice, bien que plus important chez les patients exprimant le PDL1 $\geq 50\%$, était observé quel que soit le taux de PDL1. Le profil de tolérance était comparable dans les deux groupes (67% d'effets indésirables de grade 3 ou plus dans le groupe CIT versus 66% dans le groupe chimiothérapie seule) (69,132).

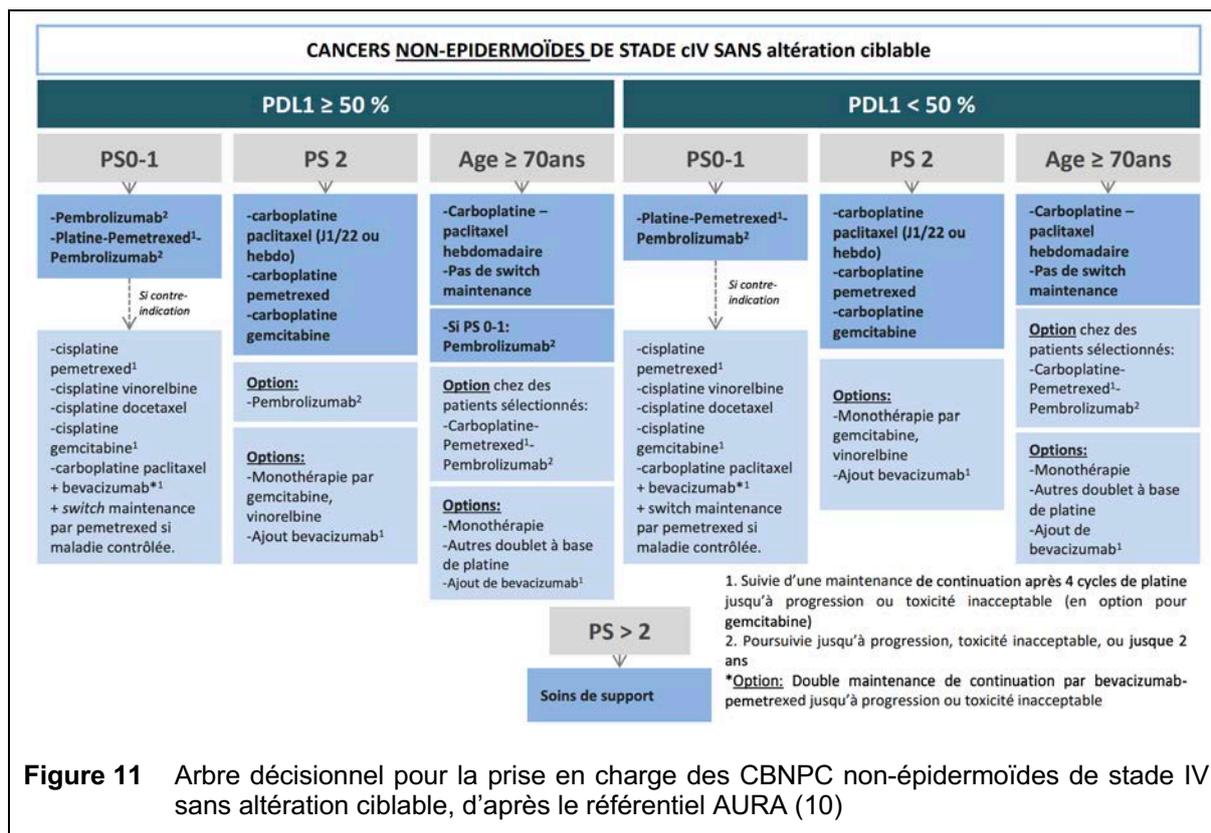


Sur la base de ces résultats, l'association pembrolizumab – sel de platine – pemetrexed constitue, depuis 2018, le traitement de 1^{ère} intention des patients atteints d'un CBNPC sans altération d'EGFR ou de ALK, quel que soit le niveau de PDL1 (obtention de l'AMM en septembre 2018 et de l'avis favorable pour le remboursement en février 2019) (10).

Néanmoins, pour les patients une expression forte de PD-L1 $\geq 50\%$, le pembrolizumab en monothérapie reste également recommandé en l'absence de données de comparaison directe entre le pembrolizumab seul et la combinaison pembrolizumab – chimiothérapie dans cette population et au regard des résultats d'une comparaison indirecte entre les essais Keynote 024 et Keynote 189 qui n'a pas montré de différence d'efficacité significative entre les deux traitements (133).

L'atezolizumab a par ailleurs été évalué en association au paclitaxel et au carboplatine plus ou moins au bevacizumab au cours de l'essai clinique Impower 150. Cette étude a démontré la supériorité de la combinaison atezolizumab – paclitaxel – carboplatine – bevacizumab (ABCP) par rapport à l'association BCP (SGm de 19,2 mois versus 14,7 mois ; HR 0,78 [IC 95% 0,64-0,96] et SSPm 8,3 mois versus 6.8 mois ; HR 0,62 [0,52-0,74]. Bien qu'il n'existe pas d'étude comparative, le bénéfice en SG apparaît cependant moins important avec la combinaison ABCP qu'avec l'association pembrolizumab – sel de platine – pemetrexed.

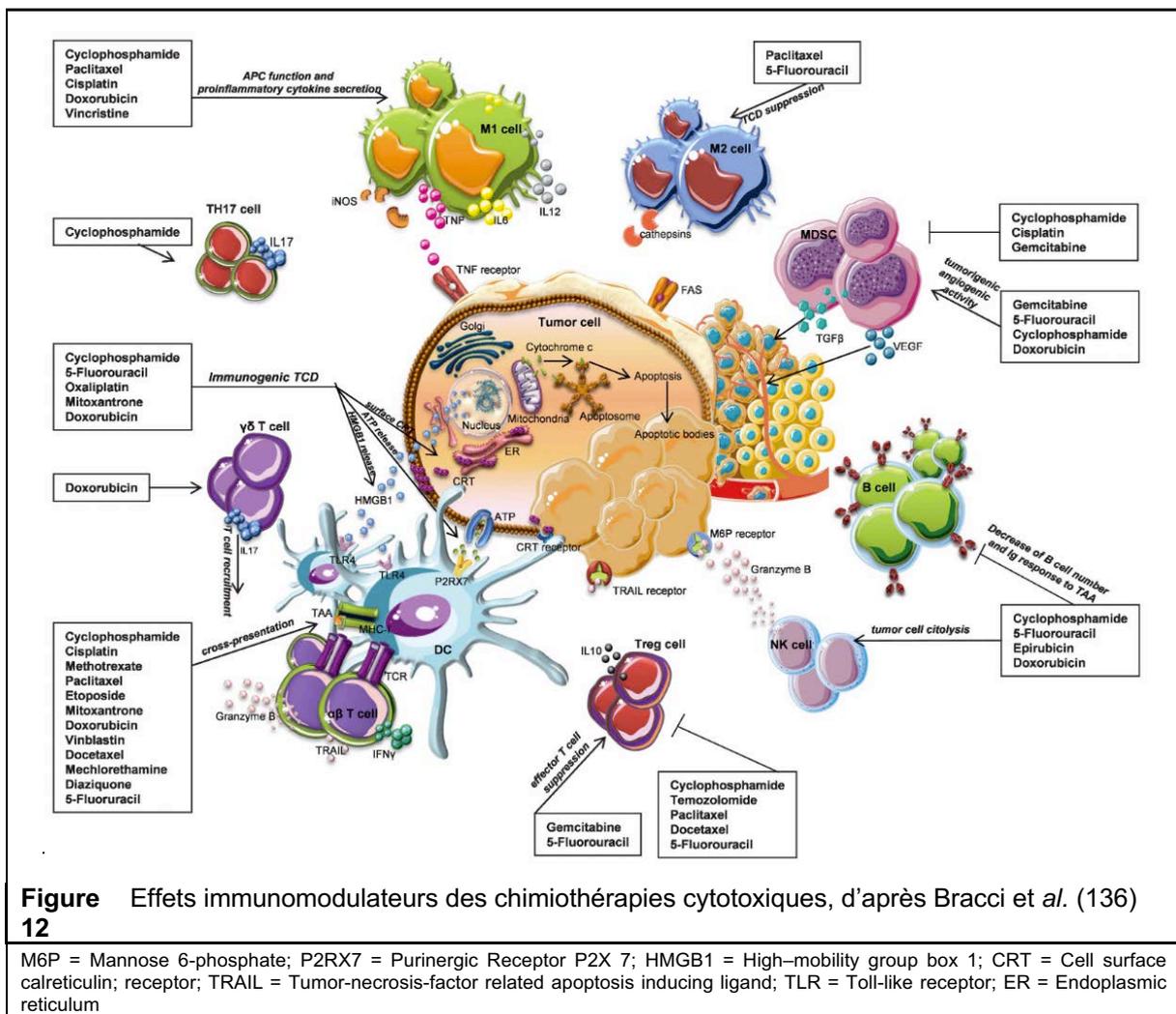
Sur la base de ces données, l'atezolizumab a obtenu l'AMM en octobre 2019 et l'avis favorable pour le remboursement en octobre 2020 en association au bevacizumab, au paclitaxel et au carboplatine en 1^{ère} ligne de traitement pour les patients atteints d'un CBNPC non-épidermoïde avancé sans mutation EGFR ou réarrangement ALK. L'association pembrolizumab – sel de platine – pemetrexed reste néanmoins le traitement de 1^{ère} intention dans cette situation (Figure 11) (10).



2. Chimiothérapie et immunothérapie : une combinaison synergique

L'intérêt de la combinaison CIT peut s'expliquer par une potentielle synergie entre la réponse immunitaire induite par les ICI et les effets immunogènes de la chimiothérapie (Figure 12). Il a notamment été montré que la libération d'antigènes tumoraux lors de la mort cellulaire induite par la chimiothérapie entraîne une augmentation du phénomène de présentation antigénique aboutissant à un phénomène de mort immunogène. La régénération lymphocytaire homéostatique à partir du compartiment périphérique consécutive à la lymphopénie post-chimiothérapie favoriserait en outre l'expansion des lymphocytes T antitumoraux (135). Les agents cytotoxiques pourraient également activer la réponse immunitaire en favorisant l'afflux des cellules immunitaires effectrices, en inhibant les cellules immunitaires immunosuppressives ou encore en augmentant la sensibilité des cellules tumorales à l'action des lymphocytes

T et de cellules NK (136). La chimiothérapie par pemetrexed favoriserait également l'expression de PDL1 (61). Enfin, certaines chimiothérapies comme les alkylants, dont font partie les sels de platine, élargissent le répertoire antigénique des tumeurs du fait de leur effet mutagène (137).



L'association du bevacizumab aux anti-PD(L)1 est également intéressante de par les propriétés immunosuppressives du VEGF. Il a notamment été montré que la production excessive de VEGF peut conduire à inhiber l'immunité antitumorale en freinant la maturation des cellules dendritiques, la présentation antigénique et le recrutement des lymphocytes T, en stimulant la prolifération de cellules immunitaires immunosuppressives et en induisant une vascularisation intra-tumorale aberrante.

3. Association chimiothérapie – immunothérapie et drivers oncogéniques

Les altérations génétiques impactant sensiblement la réponse à l'immunothérapie, la question de savoir si la combinaison chimiothérapie – immunothérapie confère un bénéfice pour chaque sous-groupe mutationnel apparaît pertinente.

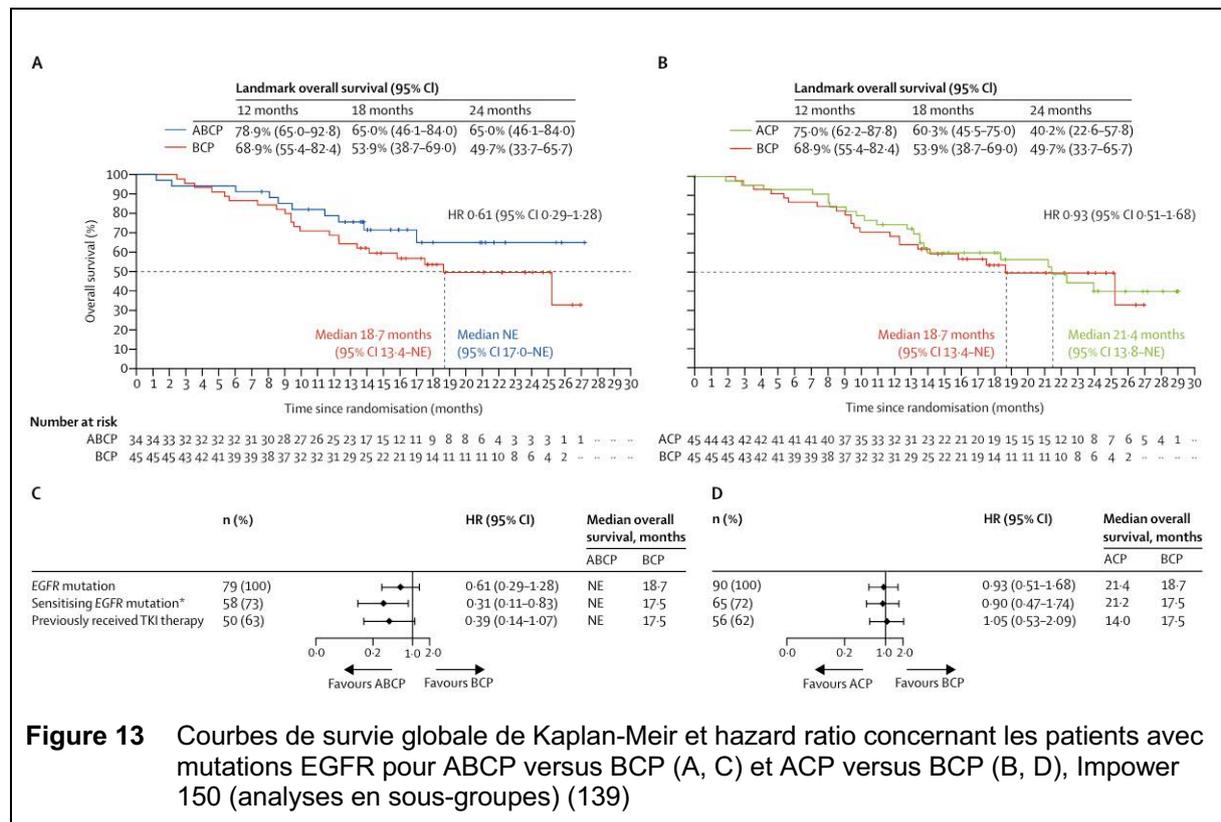
Cependant, si la relation entre altérations oncogéniques et efficacité des anti-PDL(1) a fait l'objet d'intenses recherches, peu d'études, y compris de vie réelle, ont jusqu'à présent été publiées à propos de l'association CIT.

Les mutations de l'EGFR et les réarrangements de ALK constituaient un facteur d'exclusion vis-à-vis de l'essai clinique Keynote 189. Les données concernant les autres drivers oncogéniques n'ont pas été rapportés. Les analyses en sous-groupes montrent un bénéfice supérieur sur la SG de l'association pembrolizumab – chimiothérapie chez les patients non-fumeurs par rapport aux patient fumeurs sans que le profil mutationnel des patients non-fumeurs ne soit précisé (69).

Les essais cliniques Impower 130 et Impower 150 évaluant l'association atezolizumab – chimiothérapie ont inclus des patients avec mutation de l'EGFR ou réarrangement de ALK (124 et 40 patients respectivement) (138,139). Dans l'essai Impower 130, l'atezolizumab en association à une chimiothérapie par paclitaxel et carboplatine ne conférait pas de bénéfice de SG ou de SSP en comparaison à la chimiothérapie seule dans le sous-groupe des patients avec mutation de l'EGFR ou réarrangement de ALK. Les patients non-fumeurs ne tiraient pas non plus de bénéfice de l'association ACP (138). Les résultats de l'essai Impower 150 montrent que l'association ABCP apporterait un bénéfice en SSP et en SG en comparaison à BCP chez les patients qui présentent une délétion de l'exon 19 de l'EGFR ou une mutation Leu858Arg de l'EGFR (SGm NR versus 17,5 mois ; HR 0,31 [IC 95% 0,11-0,83] et SSPm de 10,3 mois versus

6,1 mois ; HR 0,41 [0,23-0,75]). Toutes mutations EGFR confondues, les résultats semblent également être en faveur de l'ajout de l'atezolizumab, bien que les différences observées sur la SG ne soient pas statistiquement significatives (Figures 13 et 14) (139). Les données concernant les patients avec réarrangement ALK n'ont pas été rapportées.

L'atezolizumab en association au carboplatine, paclitaxel et bevacizumab dispose d'une AMM après échec des thérapies ciblées appropriées chez les patients avec altérations EGFR ou ALK mais n'est pas remboursée dans cette indication en raison d'un service médical rendu jugé insuffisant.



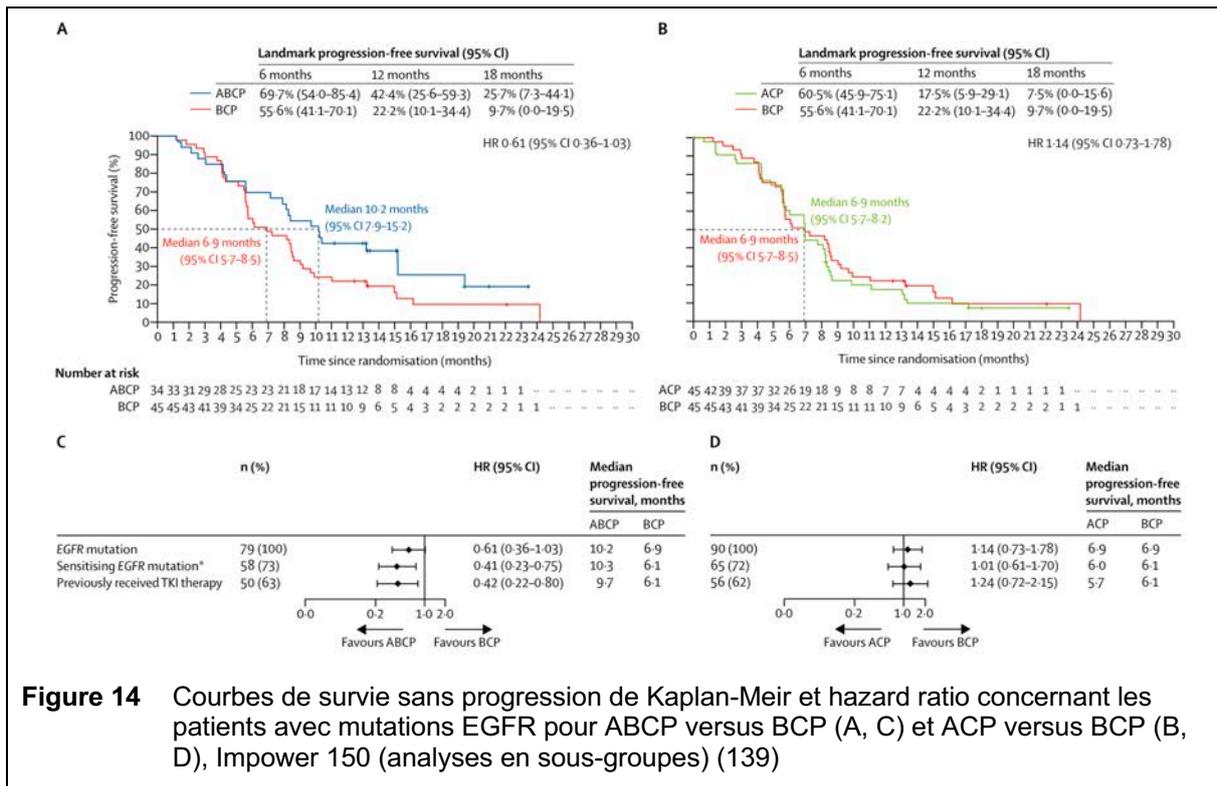
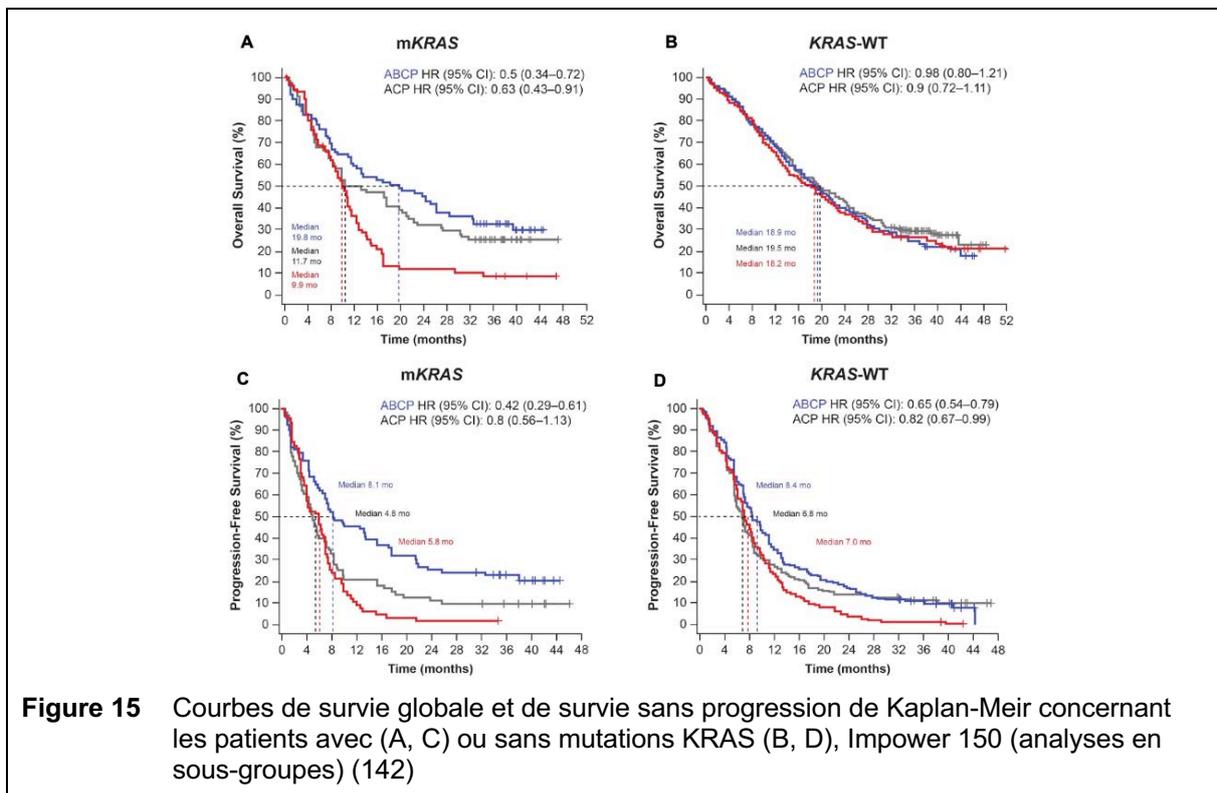


Figure 14 Courbes de survie sans progression de Kaplan-Meier et hazard ratio concernant les patients avec mutations EGFR pour ABCP versus BCP (A, C) et ACP versus BCP (B, D), Impower 150 (analyses en sous-groupes) (139)

Cependant, les résultats d'une étude rétrospective ayant évalué l'association CIT (n = 12) en comparaison à la chimiothérapie seule à progression sous osimertinib ont montré que l'ajout d'un ICI à la chimiothérapie n'apporterait pas de bénéfice voire serait délétère chez les patients avec mutation de l'EGFR (SGm de 10,9 mois dans le groupe CIT versus 12,0 mois dans le groupe chimiothérapie seule ; HR 1,67 [95% CI 0,86-3,23] (140).

A travers une étude rétrospective menée sur un large effectif de 210 patients avec altération de l'HER2, Yang *et al.* ont montré que l'ajout d'un ICI à la chimiothérapie chez ces patients ne conférait pas d'avantage en SSP statistiquement significatif (SSPm de 5.20 mois versus 4,03 ; HR 0,77 [IC 95% 0,52-1,14]. En revanche, l'association du bevacizumab à la chimiothérapie, semblait intéressante dans cette population (SSPm de 5,6 mois ; HR 0,64 [0,46-0,88] (141).

L'efficacité de l'association ABCP ne semblait pas être affectée par les mutations KRAS (SGm de 19.8 mois et SSPm de 8,1 mois chez les patients KRAS^m versus 18,9 mois et 8,4 mois respectivement chez les patients KRAS^{wt}) dans l'essai Impower 150 (142). En revanche, les associations ACP et BPC étaient associées à des résultats plus faibles chez les patients KRAS^m en comparaison aux patients KRAS^{wt} (Figure 15). Au total, l'association ABCP apportait un bénéfice par rapport à BCP et à ACP chez les patients KRAS^m mais pas chez les patients KRAS^{wt}. L'impact des co-mutations TP53, STK11 et KEAP1 a également été étudié dans cet essai. Quel que soit le bras de traitement, les co-mutations STK11 et KEAP1 constituaient un facteur de mauvais pronostic. L'association ABPC semblait tout de même conférer un avantage en SG et en SSP par rapport à BCP et à ACP en cas de mutations STK11 et/ou KEAP1 (Figure 16). Les co-mutations TP53 apparaissaient quant à elles être un facteur de bon pronostic chez les patients traités par ABCP mais pas chez les patients traités par ACP ou BCP (Figure 17).



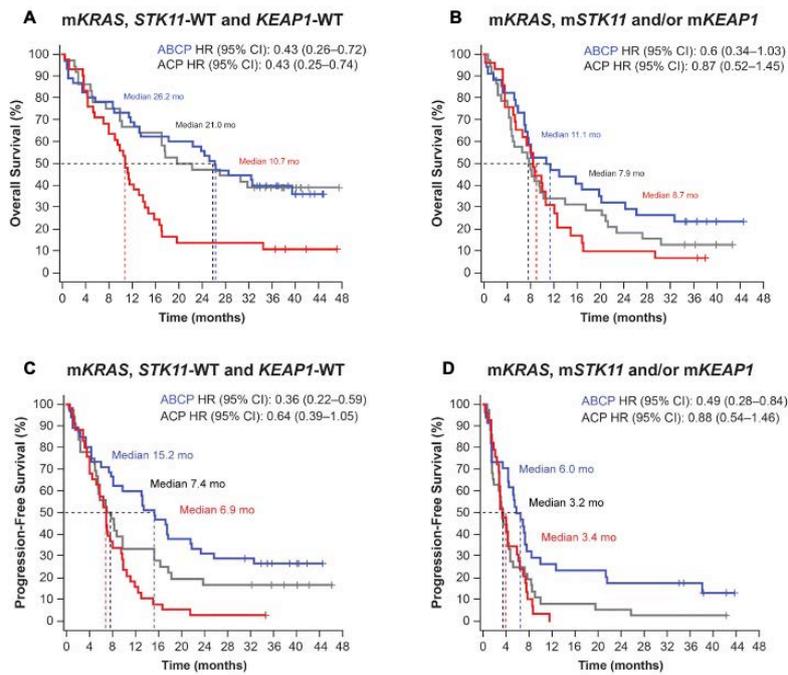


Figure 16 Courbes de survie globale et de survie sans progression de Kaplan-Meier concernant les patients avec mutations KRAS associées (A, C) ou non (B, D) à des mutations STK11 et/ou KEAP1, Impower 150 (analyses en sous-groupes) (142)

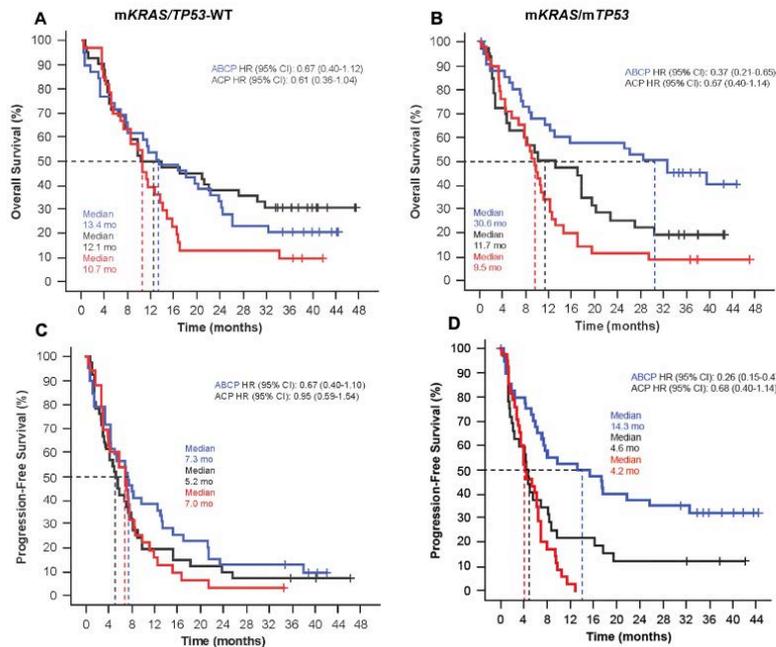


Figure 17 Courbes de survie globale et de survie sans progression de Kaplan-Meier concernant les patients avec mutations KRAS associées (A, C) ou non (B, D) à des mutations TP53, Impower 150 (analyses en sous-groupes) (142)

En ce qui concerne les autres altérations géniques (ALK, ROS1, BRAF, MET), il n'a, à notre connaissance, pas été publié de données concernant l'efficacité de l'association CIT dans ces sous-groupes de patients.

La combinaison CIT ayant pris une place centrale dans la prise en charge des CBNPC, l'intérêt d'associer un ICI à la chimiothérapie en cas de driver oncogénique ciblable reste donc à préciser. Au travers de ces effets immunologiques, l'ajout de la chimiothérapie à un ICI pourrait, en effet, permettre de récupérer une réponse immunitaire antitumorale efficace et de promouvoir l'efficacité de l'immunothérapie notamment dans le contexte des CBNPC avec micro-environnement tumoral « froid », comme les CBNPC avec réarrangements EGFR ou ALK. Cependant, l'impact des altérations oncogènes, et en particulier de ceux associés à de faibles réponses vis-à-vis des anti-PD(L1), sur l'efficacité de CIT n'a été que peu étudiée à l'heure actuelle. Nous avons dans ce contexte réalisé une étude rétrospective multicentrique afin de décrire l'activité clinique de la combinaison CIT en fonction du profil oncogénique tumoral.

II. ARTICLE

Impact of oncogenic drivers on the efficacy of immunotherapy combined with chemotherapy in non-squamous non-small cell lung cancers

Marchal M.¹ ; Leroy V.² ; Dansin E.³ ; Paris N.⁴ ; Bordier S.⁵ ; Gauvain C.¹ ; Cortot A.¹

¹ Department of Thoracic Oncology, Lille University Hospital, Lille, France; ² Department of Pneumology, Clinique Tessier, Valenciennes, France; ³ Department of Medical Oncology, Centre Oscar Lambret, Lille, France; ⁴ Department of Pneumology, Dunkerque Hospital, Dunkerque, France; ⁵ Department of Pneumology, Roubaix Hospital, Roubaix, France

ABSTRACT

Background: The combination of chemotherapy and immunotherapy (CIT) is the standard care for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). However, the impact of molecular alterations on the efficacy of CIT combination has been poorly studied. The objective of this study was to describe the clinical activity of CIT according to oncogenic alterations.

Methods: We conducted a retrospective multicenter study for patients receiving CIT between September 2018 and October 2021 for an advanced non-squamous NSCLC with available Next Generation Sequencing tumor DNA analysis. The primary endpoint was real-world progression-free survival (PFS) and the secondary endpoints were overall survival (OS) and objective response rate.

Results: 195 patients were included. 173 (88%) patients were current or former smokers and 154 (79%) were treatment-naive. 80 patients (41.0%) had a KRAS mutation, 16 (8.2%) had an EGFR mutation or an ALK, ROS1 or RET rearrangement, 11 (5.6%) had a BRAF mutation, 6 (3.1%) had a MET exon 14 mutation or a MET amplification and 5 (2.6%) had a HER2 mutation. 77 patients (39.5%) had none of these oncogenic alterations.

In the overall population, the median PFS was 6.41 months (95% CI 5.26-7.33). The median PFS for each mutational subgroup was 7.1 months (5.42-8.93) for KRAS, 5.47 months (2.53-15.25) for EGFR/ALK/ROS1/RET, 12.9 months (2.56-NR) for BRAF, 1.54 months (0.62-NR) for MET, 3.91 months (2.55-NR) for HER2, and 5.59 months (4.67-7.8) for patients without oncogenic alterations. PFS did not differ between KRAS, EGFR/ALK/ROS1/RET, BRAF and no oncogenic alterations sub-group.

PFS and OS were positively correlated with MET overexpression and PDL1 expression, while STK11 mutations were associated with a worse prognosis. Survival data were not statistically different according to TP53 status.

Conclusion: In our study, the efficacy of the CIT combination was uneven according to the molecular profile but did not seem to be impaired by EGFR, ALK, ROS1 and RET alterations. These results, which need to be confirmed, may call into question the systematic exclusion of these patients from clinical trials evaluating CIT combinations.

INTRODUCTION

Lung cancer is the leading cause of cancer-related death worldwide (143). Over the last fifteen years, the treatment of advanced non-small cells lung cancer (NSCLC) has undergone profound changes with the development of targeted therapies and immune check-points inhibitors (ICI), offering the possibility of a long-term disease control. Meanwhile, molecular profiling has become part of the routine care for the detection of targetable oncogenic alterations and predictive biomarker of response to immunotherapy (37).

Targeted therapies have substantially improved outcomes for patients harboring EGFR mutation and ALK rearrangement (46,144). Nevertheless, these treatments are also associated with unavoidable development of resistance and tumor recurrence (145,146).

Programmed cell death-1 (PD1) or programmed cell death ligand-1 (PDL1) inhibitors have also significantly enhanced the prognosis of patients with advanced NSCLC (62,64,147). However, efficacy of ICI is in fact contrasted and only a subset of patients actually derives prolonged benefit from immunotherapy. Several studies have shown that anti-PD(L)1 agents are associated with poor outcomes in patients with EGFR mutations and ALK rearrangements (88–93). This lack of immunogenicity may be related to an uninfamed tumor micro-environment and low tumor mutational burden (89,102). On the contrary, KRAS mutations appear to be predictive of good response to ICI, by their association with smoking history, high PDL1 expression, dense T-cell infiltration and elevated tumor mutational burden (17). However, interaction between ICI, tumor cells and host-immunity are complex and other molecular biomarkers, such as STK11 co-mutations, also influence the efficacy of immunotherapy (126).

It has been demonstrated that the addition of anti-PD(L)1 to standard chemotherapy increase the chances of response and prolonged survival (69,148). Benefits observed with this combination may result from a synergy between the immune response induced by ICI and the immunogenic effects of chemotherapy, such as increasing the release of tumoral antigens (immune cell death), inhibiting myeloid-derived suppressor cells or increasing the ratio of cytotoxic lymphocytes to regulatory T cells (136). Since then, the combination of chemotherapy with immunotherapy (CIT) has taken a large part of the management of advanced NSCLC (2). Therefore, it becomes an important question in clinical practice to know whether CIT can benefit patients harboring non-immunogenic oncogenic drivers.

To this day, few studies have investigated the response to CIT in the context of oncogenic alterations. Because they correlate with weak immunogenicity, patients with EGFR and ALK alterations were excluded from most of the clinical trials of immunotherapy, including the pivotal Keynote 189 trial. However, based on the anti-tumoral immunological effects of chemotherapy, it can be hypothesized that adding chemotherapy to immunotherapy could promote recovery of immunosurveillance function and restore the activity of ICI, even in “cold” tumors.

At this time, the impact of oncogenic drivers, and in particular those associated with poor outcomes on single agent anti-PD(L)1 regiment, on the efficacy of CIT is unknown. Thus, we conducted a multicentrale retrospective study to describe the efficacy of CIT according to oncogenic alterations.

METHODS

Study design and population

This retrospective real-world study was carried out in five centers. All patients aged 18 years or older with a locally advanced or a metastatic non-squamous NSCLC for which mutational testing was performed and interpretable at baseline were included if they had received a combination of pembrolizumab plus cisplatin or carboplatin and pemetrexed or a combination of atezolizumab, carboplatin and paclitaxel with or without bevacizumab between September 2018 and October 2021.

We excluded patients who received immunotherapy and platinum-doublet chemotherapy but only one cycle with these two regimens in combination. We also excluded progression-free patients who discontinued treatment after the first or the second cycle to start a targeted therapy and who received alternative maintenance in the context of a clinical trial.

Patients were divided into sub-groups according to the type of oncogenic alterations: KRAS mutations; EGFR mutations or ALK/ROS1/RET rearrangements; BRAF mutations; MET mutations or MET amplification; HER2 mutations; and no oncogenic drivers.

Data collection and assessments

Patient demographics (sex, age, smoking history, performance status [ECOG], previous therapeutic regimens) and tumor characteristics (staging [8th edition TNM classification], presence of cerebral or liver metastases, molecular profiling, PDL1 expression, MET expression) were collected at baseline.

ALK rearrangement testing was carried out in each center by IHC assay according to local procedures. ROS1 fusion screening was centralized at the Lille University

Hospital and was assessed by IHC assay using D4D6 antibody followed by a FISH test for confirmation. Mutational testing was performed at Lille University Hospital using DNA-based Ampliseq Next Generation Sequencing multiplex panels (22 to 36 genes) or using Pyrosequencing, SNaPshot and fragments analyses for the detection of KRAS, EGFR, HER2, BRAF and MET mutations. PDL1 tumor proportion score (TPS) was assessed locally with IHC assay using the 22C3 antibody and was defined as the percentage of tumor cells with membrane PDL1 staining. MET IHC was centrally performed at the Lille University Hospital using the SP44 antibody and was graded from 0 to 3+ according to the intensity of the staining and the proportion of stained cells (1+: $\geq 50\%$ of cells with weak intensity marking; 2+: $\geq 50\%$ of cells with moderate intensity marking; 3+: $\geq 50\%$ of cells with strong intensity marking). Gene copy number was investigated in case of MET IHC 3+ by FISH using ZytoLight SPEC MET/CEN 7 Dual Color assay. Amplification of MET was confirmed if MET/CEN7 ratio was ≥ 1.8 , if the mean MET gene copy number was ≥ 6 or if clusters were detected.

Real-world objective response was evaluated according to Response Evaluation Criteria in Solid tumors (RECIST) version 1.1, when reports and images were available. If not, we used the objective response as assessed by the referring physician in electronic health records.

Immune-related adverse events (irAEs) were collected and graded according to the National Cancer Institute Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE), version 5

Endpoints

The primary endpoint was real-world progression-free survival (PFS) and the secondary endpoints were overall survival (OS), objective response rate (ORR) and disease control rate.

PFS was defined as the interval between the first treatment administration and the date of either death or radiologically documented progression. OS was defined as the interval between the first treatment administration and the date of either death or the last follow-up. The objective response rate refers to the percentage of patients with complete or partial response and the disease control rate corresponds to the percentage of patients with complete, partial or stable response.

Statistical analysis

Categorical variables were expressed in terms of frequency and percentage and quantitative variables in terms of mean and standard deviation or median and interquartile range (IQR).

Progression-free survival and overall survival were estimated by the Kaplan-Meier method, and compared by the Log-rank test. The Cox proportional hazards model was used to estimate the Hazard Ratios (HR) and their 95% confidence intervals (95% CI). Comparison of PFS according to oncogenic drivers was adjusted for age, performance status, smoking history, stage and number of previous lines. MET and HER2 alterations had to be excluded for comparative analyses between oncogenic drivers due to the small number of patients involved.

Median follow-up time was estimated by a reverse Kaplan Meier model. Median duration of treatment was estimated by the Kalbfleisch and Prentice method, considering treatment discontinuation as an event and death as a concurrent event. Patients still on treatment at last up-date were censored. Statistical tests were performed according to the two-sided 5% α risk.

Statistical analyses were carried out using SAS software (SAS Institute, Cary, NC, version 9.4).

Ethical disclosures

The data were gathered anonymously from digital medical files.

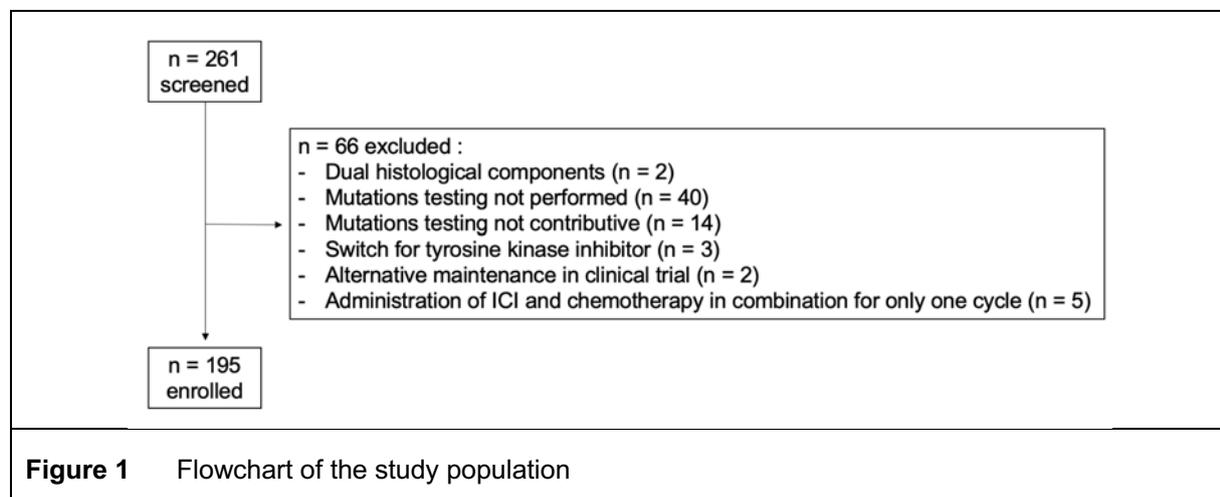
This study was conducted according the Reference Methodology 004 (MR-004) established by the National Commission of Informatic and Liberties (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés, CNIL), which regulates studies that do not involve humans in France and in particular studies based on the reuse of pre-existing data.

A declaration related to the computerized treatment of the data has been filed with the data protection officer of the Lille University Hospital (ID 865).

RESULTS

Baseline characteristics

261 patients with a locally advanced or metastatic non-squamous NSCLC and treated with platinum-based chemotherapy and immunotherapy were screened. Among them, 66 patients were excluded, mainly because no mutation profile had been performed, as shown in the flowchart (Figure 1). Overall, 195 patients were included. All of them had received a treatment with pembrolizumab, platinum and pemetrexed.



Demographics and clinical characteristics of patients at baseline are described in Table 1. 124 (64%) were men and 71 (34%) women. Median age was 62 years, ranging from 34 to 78 years. Most patients (75%) had a favorable performance status (ECOG 0 or 1). 173 (88%) were current or former smokers and 23 (12%) were non-smokers.

At baseline, the tumor disease was metastatic in 188 patients (89%) and locally advanced in 7 (11%). 62 patients (32%) presented brain metastases and 33 (17%) liver metastases.

154 patients (79%) were treatment-naïve. Among the 42 patients (21%) who had been previously treated, 7 patients (3.6%) had received prior treatment with ICI as monotherapy and 12 (6.2%) had received at least one targeted therapy.

PDL1 expression was available in 183 patients (94%). Among them, 68 (37%) had a PDL1 tumor proportion score of less than 1%, 60 (33%) a score of 1 to 49% and 55 (30%) a score of 50% or greater.

MET expression was assessed in 72 patients (37%). 33 patients (46%) had moderate or high (2+ or 3+) MET expression level.

Table 1 Baseline characteristics of the study population

Characteristic	Total (N = 195)
Men — n (%)	124 (63.6)
Age	
Median (range) — year	62.3 (34-78)
< 50 yr — n (%)	28 (14.4)
≥ 65 yr — n (%)	79 (40.5)
≥ 70 yr — n (%)	41 (21.0)
ECOG performance-status score — n (%)	
0	47 (24.1)
1	122 (62.6)
2	26 (13.3)
Smoking status — n (%)	
Current or former	172 (88.2)
< 5 pack-year	6 (3.1)
Never	23 (11.8)
Histology — n (%)	
Adenocarcinoma	173 (88.7)
Not otherwise specified	22 (11.3)
Stage — n (%)	
IVB	135 (69.2)
IVA	53 (27.2)
III	7 (3.6)
Brain metastases — n (%)	62 (31.8)
Liver metastases — n (%)	33 (16.9)
Previous therapy— n (%)	
No	154 (79.0)
For metastatic disease	31 (15.9)
1 prior line of treatment	28 (14.3)
2 prior lines of treatment	6 (3.1)
≥ 3 prior lines of treatment	7 (3.6)
Chemotherapy	21 (10.8)
Immunotherapy	7 (3.6)
Tyrosine kinase inhibitor	12 (6.2)
For non-metastatic disease	10 (5.1)
Radiochemotherapy	4 (2.1)
Adjuvant chemotherapy	5 (2.6)
Neoadjuvant chemotherapy	1 (0.5)
PDL1 TPS — n (%)	
< 1%	68 (34.9)
≥ 1%	115 (59.0)
1-49%	60 (30.8)
≥ 50%	55 (28.2)
Unknown	12 (6.1)
MET expression score — n (%)	
0	14 (7.2)
1+	25 (12.8)
2+	25 (12.8)
3+	8 (4.1)
Unknown	123 (63.1)

Molecular profiling

Molecular profiling was evaluated by DNA-based NGS panel in 193 patients (99%) and by Pyrosequencing, SNaPshot and fragments analyses for the detection of EGFR, KRAS, HER2, BRAF and MET mutations in 2 patients (1%). One of these two patients had EGFR exon 20 insertion and the other had KRAS G12C mutation. Molecular testing was performed on tissue or cytological samples in 186 patients (95%) and on circulating blood tumor DNA for 9 patients (5%). Additional analyzes by RNA-based NGS assay were conducted in 32 patients (16%).

118 patients had one oncogenic driver including 80 patients with a KRAS mutation (G12C, n = 38; G12D, n = 5; G12V, n = 12; G12A, n = 8; G13D, n = 4; other, n = 10), 8 patients with an EGFR mutation (exon19del or Leu858R, n = 5; exon 20 insertion, n = 2; exon 18 multiple mutations, n = 1), 5 patients with an ALK rearrangement, 2 patients with a ROS1 rearrangement, one patient with a RET rearrangement, 11 patients with a BRAF mutation (V600E, n = 6; non-V600E, n = 5), 4 patients with MET exon 14 skipping, 2 patients with MET amplification and 5 patients with a HER2 mutation. The distribution of oncogenic drivers in the study population is reported in Figure 2. Characteristics of patients in each sub-group are resumed in Supplementary Table S1.

TP53 mutations were found in 102 patients (52%) and STK11 mutations in 37 patients (19%) (Figure 3). Characteristics of patients with TP53 and STK11 mutations are summarized in Supplementary Table S2.

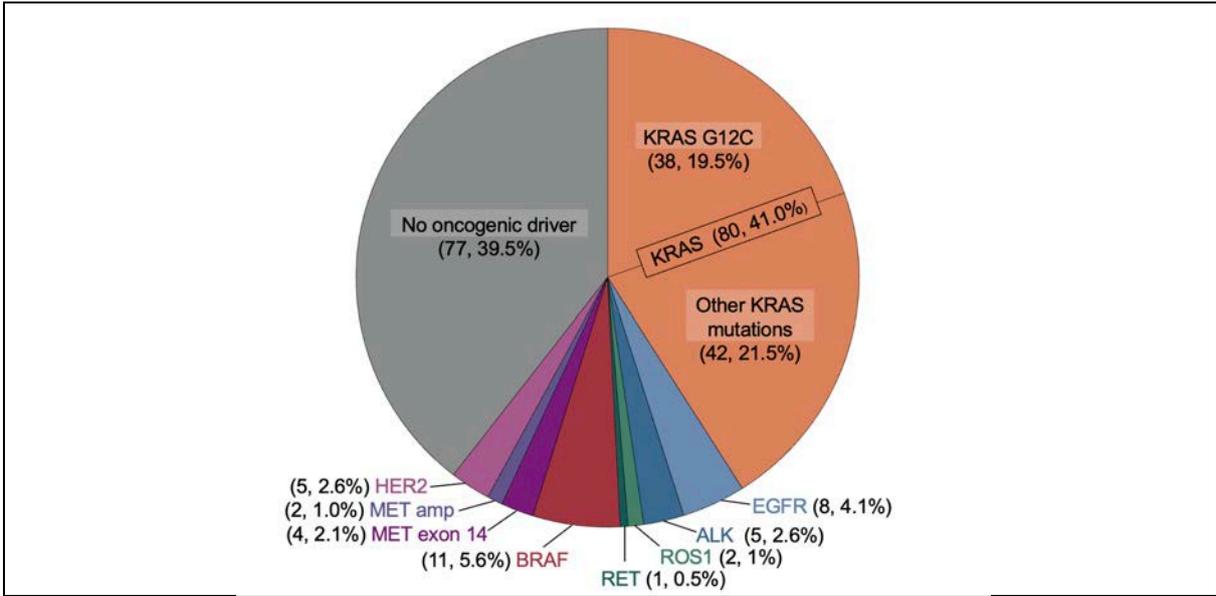


Figure 2 Distribution of oncogenic drivers in the study population

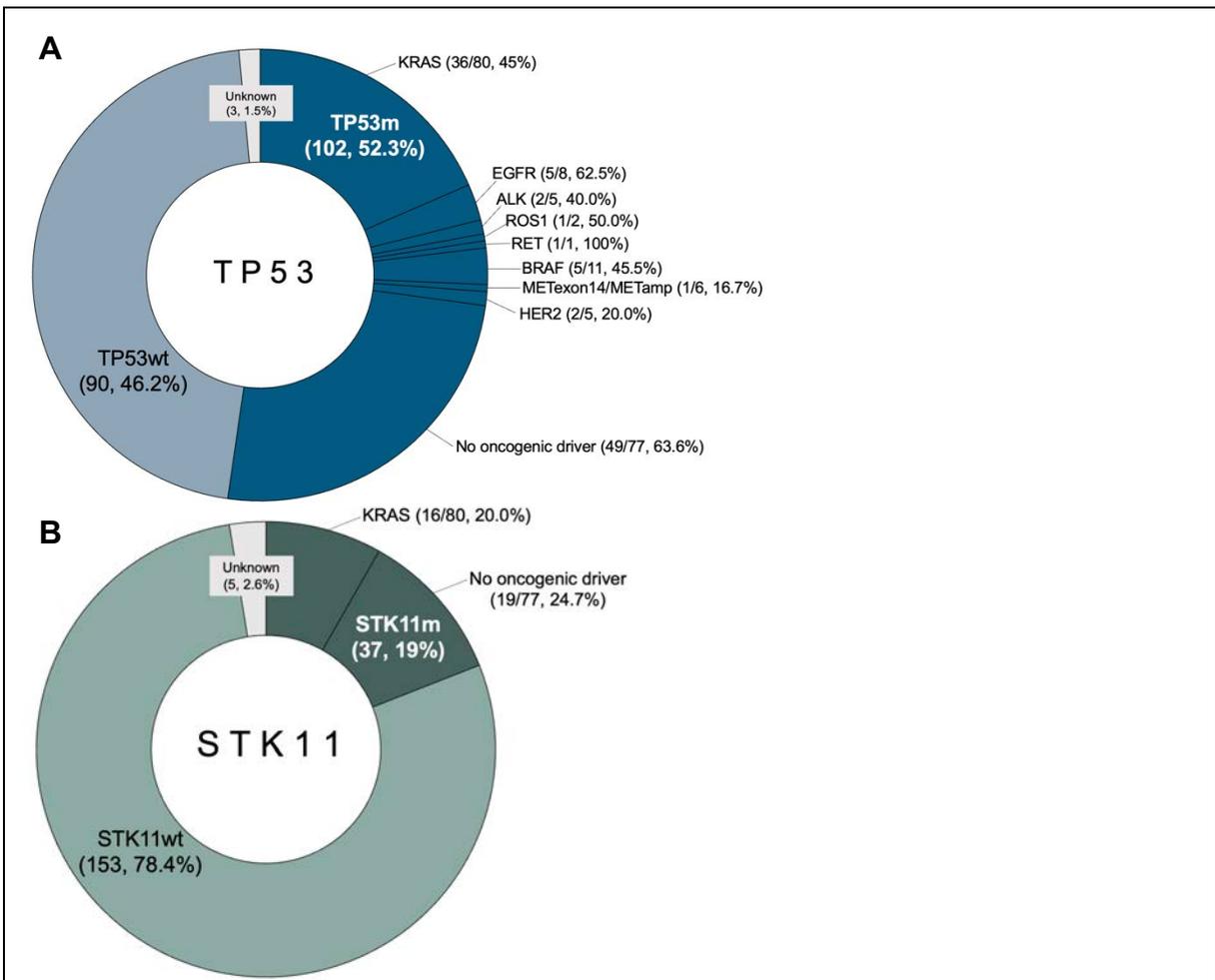


Figure 3 Distribution of TP53 mutations (A) and ST11 mutations (B) in the study population

Treatment characteristics

41 patients received cisplatin (21%) and 154 carboplatin (79%).

Maintenance therapy was conducted for 131 patients (67%). Pemetrexed was interrupted during maintenance phase for 45 patients (34%) while pembrolizumab was discontinued in only seven (5%).

Treatment was interrupted for 43% of patients at 6 months, for 69% at 12 months and for 78% at 18 months. 32 patients (16%) were still in treatment at the time of data cutoff. The main reasons for discontinuing treatment were progression disease (n = 163, 84%), toxicity (n = 21, 11%) and death (n = 13, 7%).

Median number of cycles administered was 8 (IQR 4-13).

Progression-disease survival

With a median follow up of 20.2 months [IQR 15.7-25.2], 151 events were recorded.

In the entire cohort, median progression free survival was 6.41 months (95% CI 5.32; 7.33) (Figure 4). The proportion of patients who were progression-free and alive at 6, 12 and 18 months was 51%, 29% and 22% respectively.

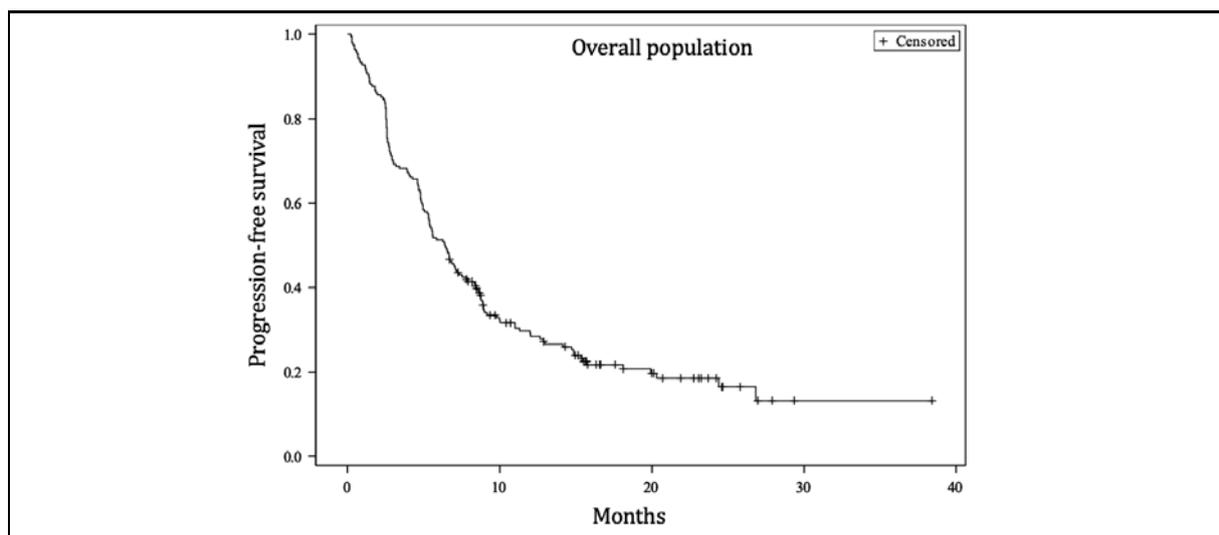


Figure 4 Kaplan-Meier curve of progression-free survival in the global study population

PFS did not statistically differ according to smoking status ($p = 0.31$), age ≥ 70 years ($p = 0.15$) and the presence of brain metastases at baseline ($p = 0.47$). PFS was significantly shorter in case of liver metastases (4.67 months [95% CI 2.60-6.87] versus 6.70 months [5.59-8.77]; HR [1.10-2.48], $p = 0.0159$).

Median PFS for individual driver oncogenic sub-groups was 7.10 months (95% CI 5.42-8.94) for KRAS patients, 5.47 months (2.53-15.34) for EGFR/ALK/ROS1/RET patients, 12.9 months (2.56-NR) for BRAF patients, 1.55 months (0.62-NR) for MET patients and 3.91 months (2.56-NR) for HER2 patients (Figure 5, Table 2). For patients without any of these oncogenic drivers, mPFS was 5.59 months (95% CI 4.67-7.79).

PFS did not differ between KRAS, EGFR/ALK/ROS1/RET, BRAF and no oncogenic driver sub-groups ($p = 0.54$), even after adjustment for age, performance status, smoking history, stage and previous lines of treatment ($p = 0.65$).

PFS was not statistically different between EGFR patients compared to those harboring ALK, ROS1 or RET rearrangements (5.59 months [95% CI 0.82-15.35] and 4.67 [2.56-5.62] respectively, $p = 0.98$).

Among the patients with BRAF mutations, PFS was higher in case of V600E mutations compared to non-V600E mutations (20.31 months [95% CI 2.60-NR] versus 8.45 [0.69-NR], $p = 0.021$).

Among patients with PFS ≥ 12 months, 2 had EGFR mutations (L858R and exon 18 multiple mutations), 2 had ALK rearrangements, 4 had BRAF V600E mutations, 21 had KRAS mutations and 0 had MET exon 14 mutation, MET amplification or HER2 mutation.

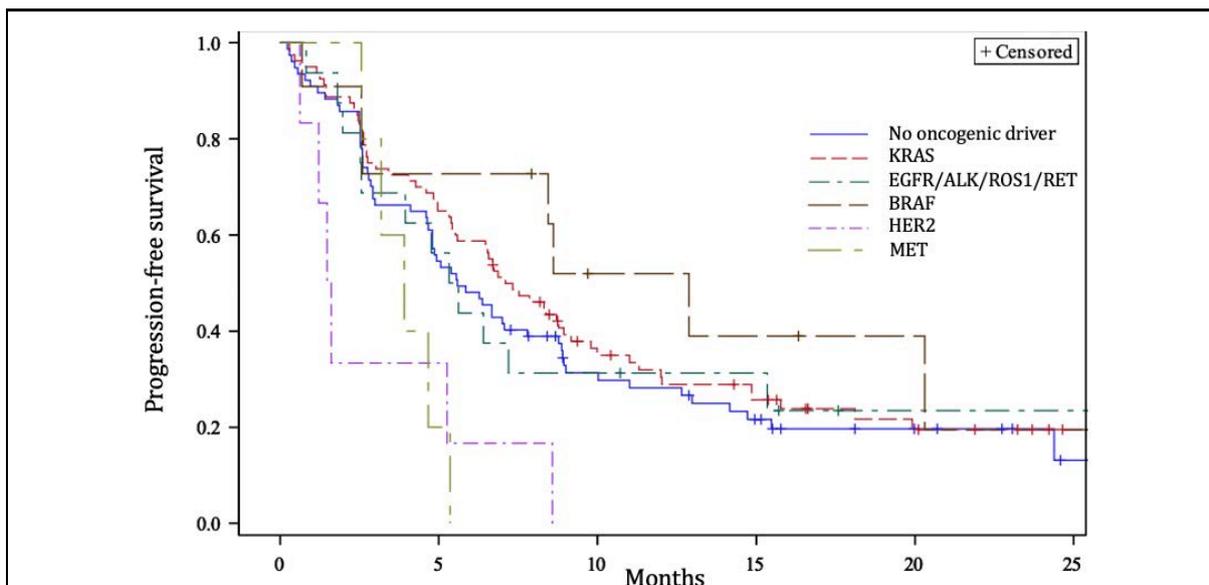
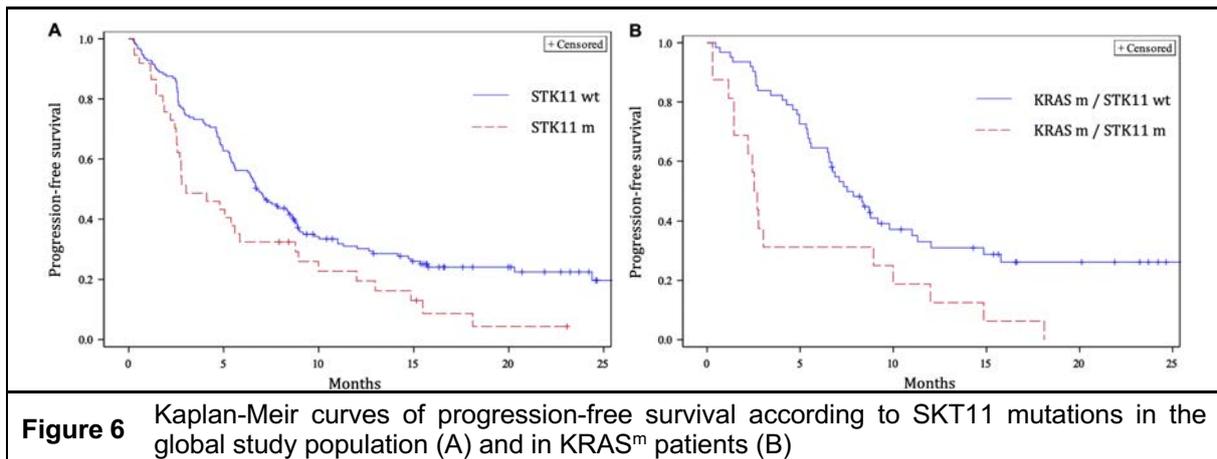


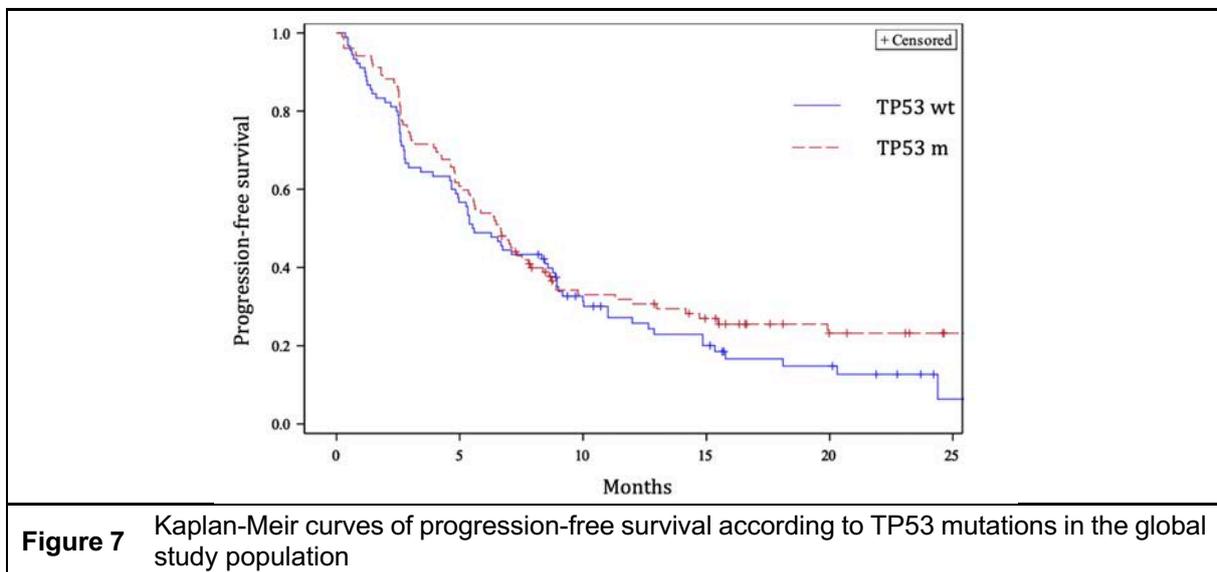
Figure 5 Kaplan-Meier curves of progression-free survival for each oncogenic drivers subgroups

Table 2 Progression-free survival and response rate according to oncogenic drivers					
	mPFS (95% CI) months	6-months PFS %	12- months PFS %	18-months PFS %	ORR %
No driver (n = 77)	5.59 (4.67-7.79)	48.1	28.2	19.7	48
KRAS (n = 80)	7.10 (5.42-8.94)	58.8	30.4	23.8	46
EGFR, ALK, ROS1 or RET (n = 16)	5.47 (2.53-15.34)	43.8	31.3	23.4	44
BRAF (n = 11)	12.9 (2.56-NR)	72.7	52.0	39.0	54
MET exon 14 or MET amp (n = 6)	1.55 (0.62-NR)	16.7	0	0	17
HER2 (n = 5)	3.91 (3.19-NR)	0	0	0	20
Overall population (n = 195)	6.41 (5.36-7.79)	51.3	29.1	21.7	46

STK11^m patients showed significantly poorer PFS compared with STK11^{wt} patients (3.0 months [95% CI 2.53-5.85] versus 6.4 months [5.52-8.38]; HR 1,66 [95% CI 1.13-2.45], p = 0.0106). The negative impact of STK11 mutations appear to be stronger among KRAS^m patients (2.5 months [1.45-9.99] for KRAS^m/STK11^m patients versus 7.5 months [6.47-9.79] for KRAS^m/STK11^{wt}; HR 2.38 [1.34-4.25], p = 0.0024) (Figure 6).



By contrast, no difference in PFS was showed between patients with and without TP53 mutations in the overall cohort (6.6 months [95% CI 5.96-7.85] versus 5.6 months [4.66-8.58] respectively; HR 0.83 [95% CI 0.60-1.14], $p = 0.25$) (Figure 7), in KRAS sub-group (7.5 months [5.42-11.3] versus 6.5 months [4.60-9.17], $p = 0.30$) or in EGFR/ALK/ROS1/RET sub-group (5.4 months [2.53-7.20] versus months 4.7 [0.82-15.35], $p = 0.88$).



MET overexpression $\geq 2+$ was significantly associated with longer PFS (6.9 months [95% CI 4.8-9.0] for patients with MET $\geq 2+$ versus 5.5 months [2.63-6.70] for patients with MET $< 2+$; HR 0.59 [95% CI 0.35-0.99], $p = 0.043$) (Figure 8).

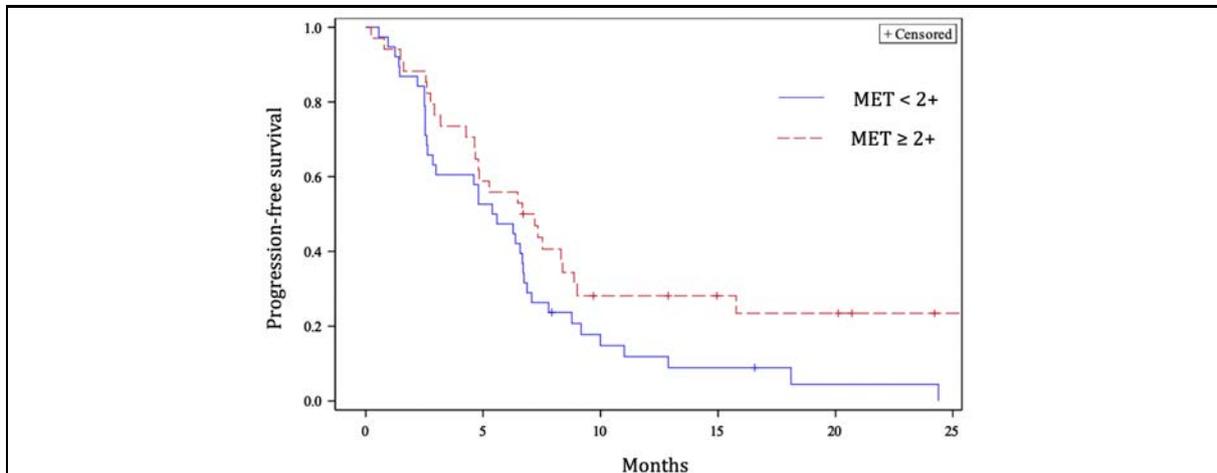


Figure 8 Kaplan-Meier curves of progression-free survival according to MET overexpression $\geq 2+$ in the global study population

PDL1 TPS $\geq 1\%$ and PDL1 TPS $\geq 50\%$ were correlated with better PFS in the overall population (mPFS of 8.4 months [95% CI 6.57-11] for PDL1 $\geq 1\%$ versus 5.0 months [4.11-5.59] for PDL1 $< 1\%$; HR 0,55 [95% CI 0.39-0.77], $p = 0.0004$ and 8.9 months [7.20-NR] for PDL1 $\geq 50\%$ versus 5.5 months [4.80-6.67] for PDL1 $< 50\%$; HR 0.45 [0.30-0.68], $p = 0.0001$). High expression of PDL1 $\geq 50\%$ seemed to be also associated with better response in EGFR/ALK/ROS1/RET sub-group (mPFS of 6.4 [3.19-NR] for PDL1 $\geq 50\%$ versus 3.23 months [0.82-NR] for PDL1 $< 50\%$).

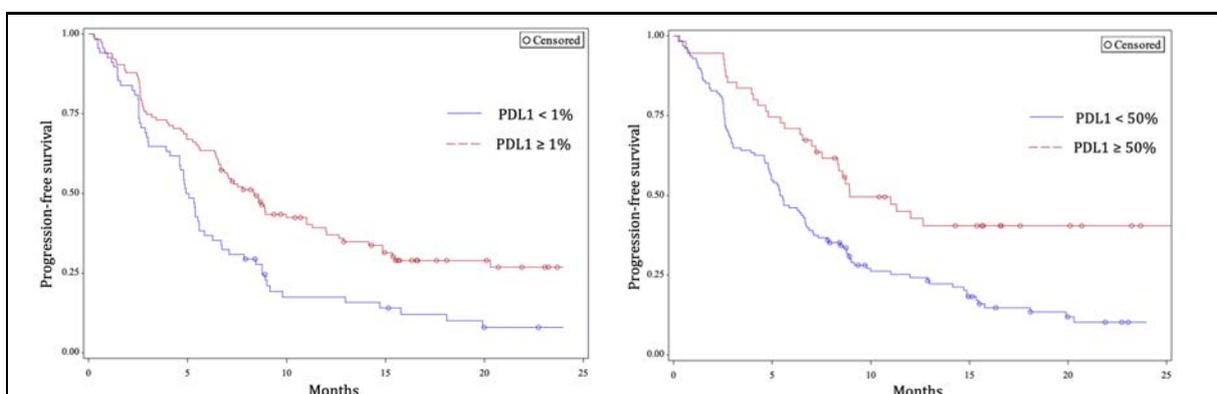


Figure 9 Kaplan-Meier curves of progression-free survival according to PDL1 Tumor Proportion Score $\geq 1\%$ (A) and PDL1 Tumor Proportion Score $\geq 50\%$ (B)

Overall survival

With 101 deaths, the estimated proportion of patients who were alive at 6 months, 12 months and 18 months were 77.8%, 61.5% and 48.0% respectively. Median overall survival in the global cohort was 16.7 months (95% CI 13.70-20.87) (Figure 10).

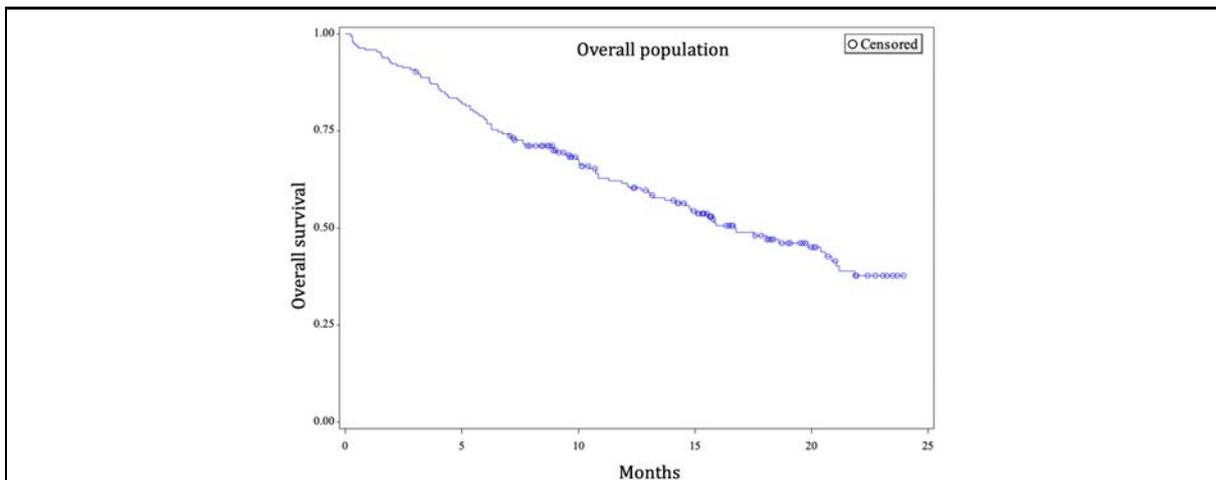


Figure 10 Kaplan-Meier curve of overall survival in the global study population

OS did not differ according to smoking status ($p = 0.63$) and to the presence of brain metastases ($p = 0.37$) but was significantly shorter in patients aged 70 years and older (mOS of 12.1 months [95% CI 6.28-21.85] in patients aged 70 years and older versus 18.1 months [15.01-21.19] for those under 70 years of age; HR 1.60 [95% CI 1.01-2.51], $p = 0.0432$) and in patients with liver metastases at baseline (mOS of 9.03 months [5.98-NR] in patients with liver metastases versus 18.1 months [15.6-26.1] for those without liver metastases; HR 1.76 [1.95-2.82], $p = 0.0195$).

Median OS for individual molecular sub-groups was 18.6 months (95% CI 12.16-NR) for KRAS, 13.0 (6.74-20.60) for EGFR/ALK/ROS1/RET, 21.9 (6.28-NR) for BRAF, 15.8 (1.84-NR) for MET and 15.0 (3.58-NR) for HER2 (Figure 11). For patients without any of these oncogenic drivers, mOS was 16.7 months (10.02-20.87). OS was not statistically different between KRAS, EGFR/ALK/ROS1/RET, BRAF and no oncogenic driver sub-groups.

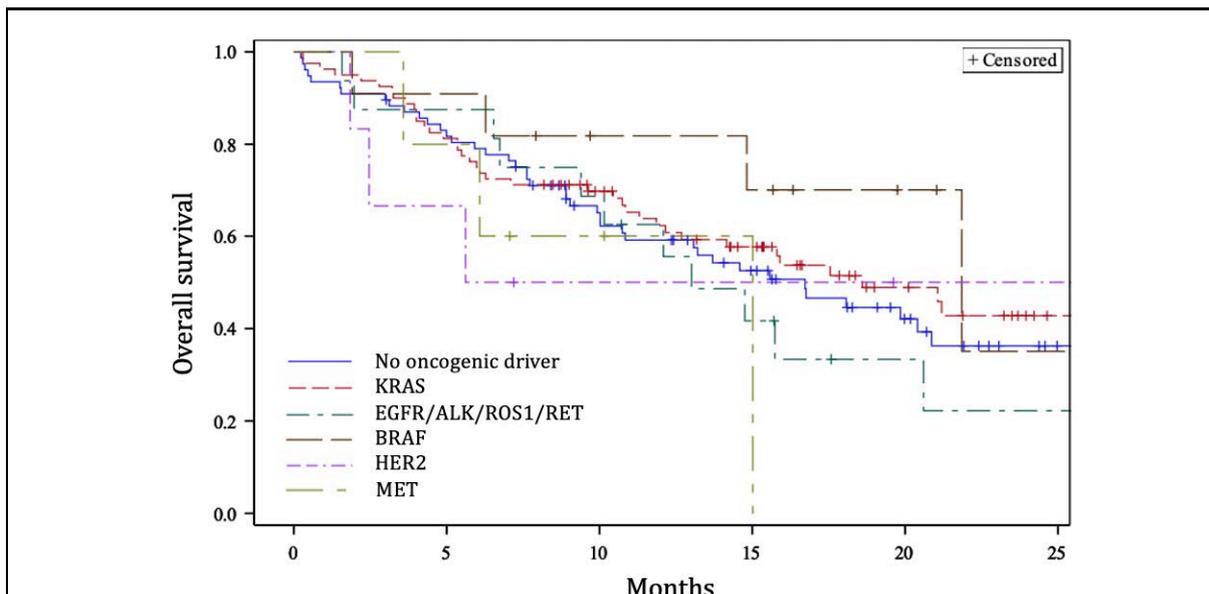


Figure 11 Kaplan-Meier curves of overall survival according to oncogenic alterations

STK11 mutations were correlated with poor prognosis in the whole population (mOS 9.9 months [95% CI 4.80-13.70] for STK11^m patients versus 19.8 months [15.57-NR] for STK11^{wt}; HR 2.08 [95% CI 1.31-3.28], p = 0.0014) and even more so in KRAS subgroup (5.6 months [3.22-NR] for KRAS^m/STK11^m versus 21.1 months [14.16-NR] for KRAS^m/STK11^{wt} patients; HR 2.51 [1.33-5.10] p = 0.0112) (Figure 12).

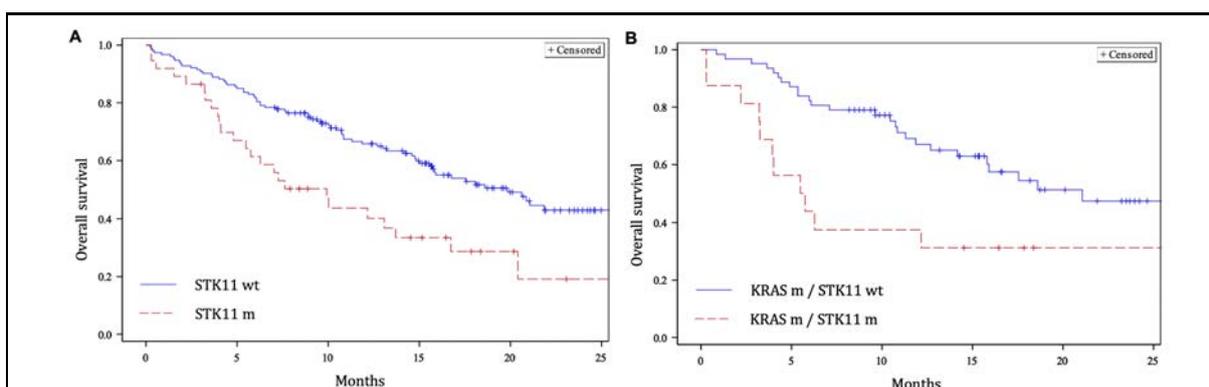


Figure 12 Kaplan-Meier curves of overall survival according to SKT11 mutations in the global study population (A) and in KRAS patients (B)

OS was not different between TP53^m patients and TP53^{wt} patients, in the global study population (mOS of 16.8 months [95% CI 13.01-21.06] and 15.9 months [12.16-NR] respectively; HR 1.02 [95% CI 0.69-1.52], p = 0.92) and in KRAS patients (p = 0.68) (Figure 13)

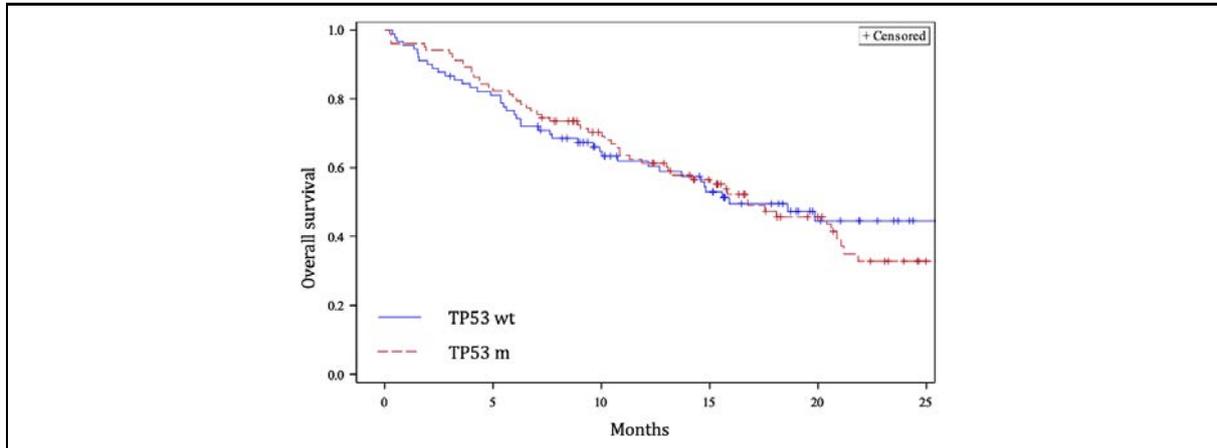


Figure 13 Kaplan-Meier curves of overall survival according to TP53 mutations in the global study population

MET overexpression $\geq 2+$ were positively correlated with OS (mOS NR [95% CI 15.02-NR] for patients with MET $\geq 2+$ and of 12.68 months [6.74-18.60] for patients with MET $< 2+$; HR 0.47 [95% CI 0.24-0.92], p = 0.028) (Figure 14).

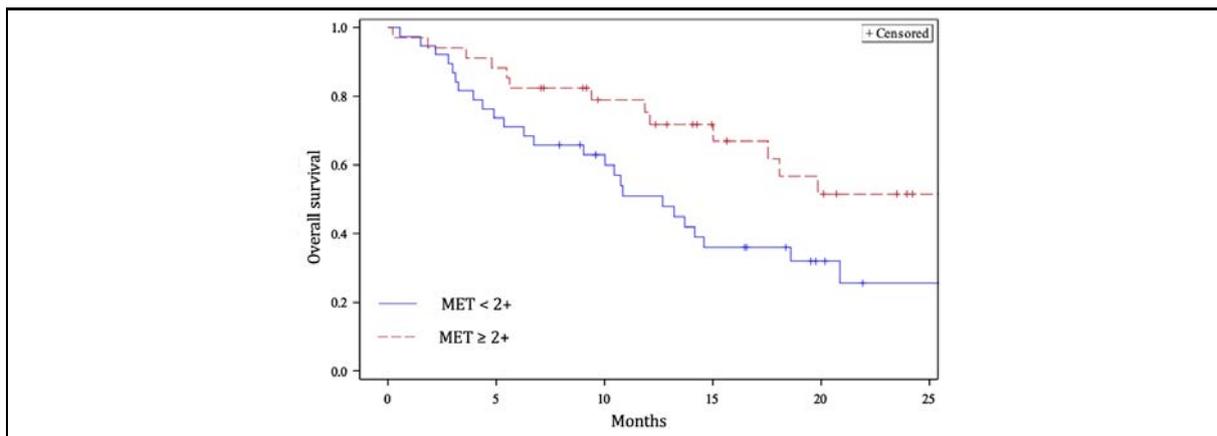
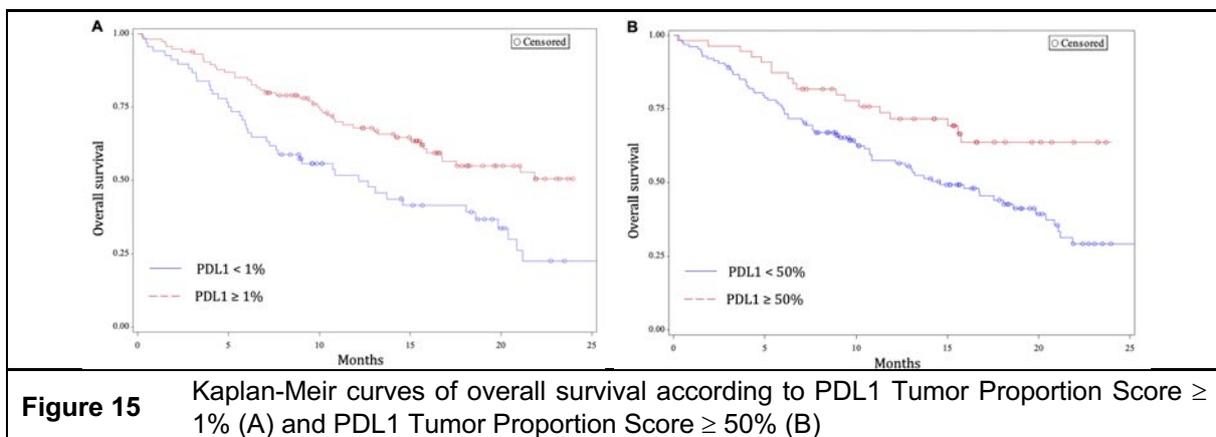


Figure 14 Kaplan-Meier curves of overall survival according to MET overexpression $\geq 2+$ in the global study population

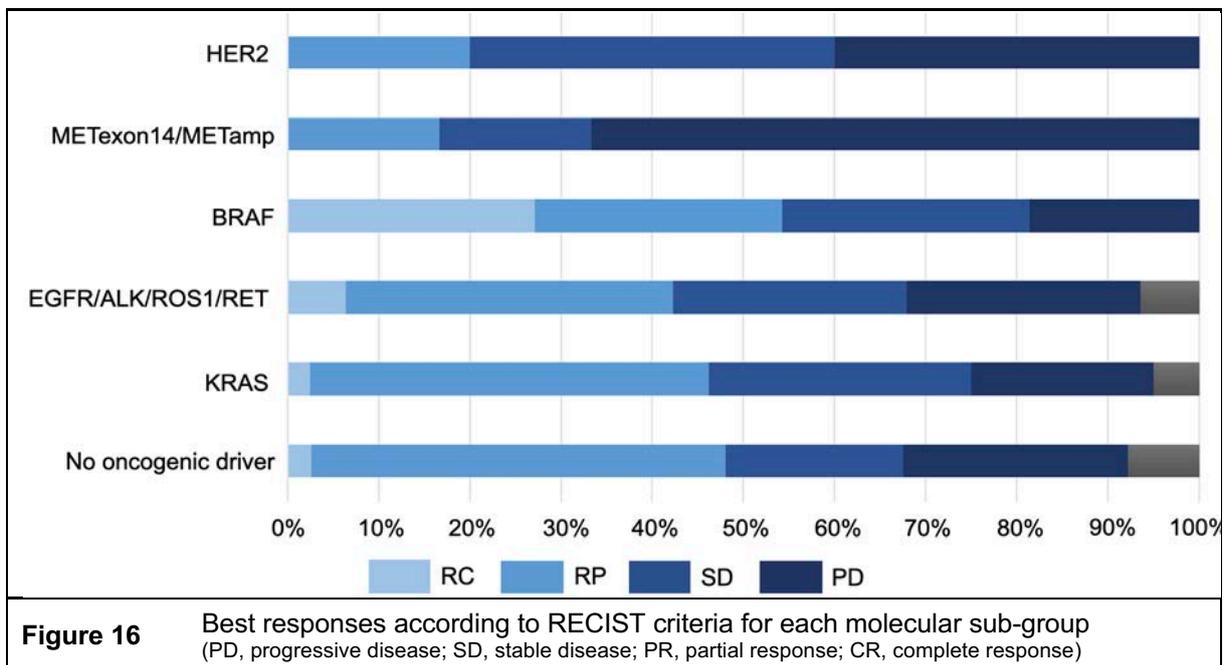
Patients with PDL1 TPS $\geq 1\%$ had longer mOS (26.1 months [95% CI 15.91-NR] versus 12.2 months [7.26-18.60]; HR 0.52 [95% CI 0.34-0.78], $p = 0.0014$). Survival benefits were greater for patients with PDL1 $\geq 50\%$ (mOS NR [15.74-NR] versus 14.6 months [10.85-19.85]; HR 0.48 [0.29-0.80], $p = 0.0049$) (Figure 15). PDL1 TPS $\geq 50\%$ appeared to be also associated with longer OS for EGFR/ALK/ROS1/RET patients (mOS of 15.0 months [6.73-NR] for patients with PDL1 TPS $\geq 50\%$ and of 9.55 months [1.56-NR] in those with PDL1 TPS $< 50\%$).



Response rate

The objective response rate was 46 % in the whole population, ranging from 17 % for the MET-dysregulated sub-group to 55 % for the BRAF sub-group. The response rate was comparable for EGFR/ALK/ROS1/RET, KRAS and no driver subgroups (44%, 46% and 48% respectively), whereas it was only 20% in case of HER2 mutations. Among the patients with BRAF mutations, the response rate was in fact contrasted and ranged from 83% for BRAF V600E NSCLC to 20% for BRAF non-V600E NSCLC. The disease control rate was 70% in the whole population. Similarly, the lowest disease control rate was observed in the MET subgroup (33%) and the highest in the BRAF subgroup (82%). It was 75%, 69%, 67.5% and 60% for KRAS mutations,

EGFR/ALK/ROS1/RET and HER2 mutations subgroups respectively. Best responses for each molecular sub-groups are represented in Figure 16.



Immune-related adverse events

Immune-related adverse events of any grade occurred in 70 patients (36%). These events were of grade 3 or higher in 10 patients (5%). The most common irAEs of grade 1 or 2 were thyroiditis (15%), rash (11%) and pruritus (7%) and the most common severe irAEs (grade 3 to 5) were hepatitis (1.5%) and pneumonitis (1.5%) (Table 3).

Discontinuation of pembrolizumab because of irAEs occurred in 9 patients (4.6%). Two immune-mediated adverse events (pneumonitis and macrophagic activation syndrome) led to death.

Among the 9 patients who received CIT directly after a tyrosine kinase inhibitor regimen, 6 patients (67%) presented irAEs, including 7 events of grade 1 or 2 (thyroiditis, n = 2; rash, n = 2; pruritus, n = 1; pneumonitis, n = 1; nephritis, n = 1) and 1 severe event (hemolytic auto-immune anemia of grade 4).

Table 3 Immune related adverse events in the global study population

	Any grade <i>n</i> (%)	Grade 1 or 2 <i>n</i> (%)	Grade 3, 4 or 5 <i>n</i> (%)
Any	70 (35.9%)	66 (33.8)	10 (5.1)
Thyroiditis	30 (15.4)	30 (15.4)	0
Rash	21 (10.8)	19 (9.7)	2 (1.0)
Pruritus	13 (6.7)	13 (6.7)	0
Pneumonitis	10 (5.1)	7 (3.6)	3 (1.5)
Rheumatism	7 (3.6)	7 (3.6)	0
Hepatitis	6 (3.1)	3 (1.5)	3 (1.5)
Colitis	4 (2.1)	3 (1.5)	1 (0.5)
Nephritis	3 (1.5)	3 (1.5)	0
Cytopenia	2 (1.0)	0	2 (1.0)
Adrenal insufficiency	2 (1.0)	2 (1.0)	0
Vitiligo	2 (1.0)	2 (1.0)	0
Myositis	1 (0.5)	1 (0.5)	0
Lupus	1 (0.5)	1 (0.5)	0
Hypophysitis	0	0	0
Pancreatitis	0	0	0
Diabetes mellitus	0	0	0

DISCUSSION

The purpose of this study was to analyze the clinical activity of CIT in the context of oncogenic driver alterations. To address this issue, we conducted a 'real world' multicentric retrospective study. We used PFS as the primary endpoint to avoid the impact of subsequent lines of treatment, including targeted therapies available from 2nd line for patients with KRAS, BRAF, MET and HER2 mutations.

Regarding age, sex, smoking status and PDL1 TPS, the study population was close to the one of the Keynote 189 clinical trial. The proportion of patients with ECOG performance status of 2 and with brain metastases at baseline was higher in our study population (69).

In the global study population, median progression free survival was 6.41 months (95% CI 95% 5.36-7.79). By comparison, mPFS was 9.0 months (95% CI 8.1-9.9) in Keynote 189 trial and 6.9 months (95% CI 5.7-8.2) in IMpower 150 trial in immunotherapy-combination groups (132,139). In a retrospective study evaluating the real-world effectiveness of pembrolizumab plus chemotherapy in untreated patients, mPFS was 8.6 months (95% CI 8.6 –9.5) (149). The observed difference in PFS may be explained by the fact that 21% and 13% of the patients included were pre-treated and had impaired general condition respectively.

Due to the low number of patients, EGFR, ALK, ROS1 and RET alterations were analyzed together in a same subgroup. PFS did not differ between patients with EGFR mutations and patients with rearrangements and in EGFR/ALK/ROS1/RET sub-group compared to KRAS, BRAF and no oncogenic driver subgroups. Regarding the EGFR patients, Shen et *al.* reported similar outcomes in 8 patients treated by CIT after

progression on targeted therapy (mPFS of 4.2 months [95% CI 3.03-5.43] and response rate of 37.5 %) (150).

In addition, 2 patients (one with EGFR L858R mutation and one with multiple exon 18 mutations) and 2 with ALK rearrangement showed prolonged progression free survival \geq 12 months (17.6 months, 25.9 months, 15.7 months and 29.3 months respectively at the end of data cutoff).

Our results suggest that the efficacy of CIT may not be inferior in patients with EGFR mutations or rearrangements compared to no oncogenic driver patients, although we cannot assess whether the benefit is carried by the addition of immunotherapy, through a synergy with the immunological effects of chemotherapy, or by the chemotherapy alone.

Impower 150 trial have shown a potential survival benefit for patients with sensitizing EGFR receiving atezolizumab in association with bevacizumab, carboplatin and paclitaxel (ABCP) when compared with BCP. However, this survival benefit was not seen with the combination of atezolizumab, carboplatin and paclitaxel, suggesting that the addition of bevacizumab may be considered in these patients in light of its immunomodulatory effects (139). White et al. have reported in a retrospective study that CIT do not improve overall survival compared to chemotherapy alone in EGFR patients after progression on osimertinib (140). In our study, overall survival did not differ according to molecular sub-groups or smoking status.

Thus, our results suggest that EGFR mutations and rearrangements are not associated with poor outcomes for patients treated with CIT and could be allowed in clinical trials evaluating CIT combinations to precise the place of immunotherapy in this population.

Despite close clinical and pathophysiological characteristics and a similar response profile to immunotherapy as a single agent (92,93,151), the five patients with HER2 mutations seem to derive less benefit from CIT compared to those with EGFR mutations in our study. However, because of this small number of patients, HER2 mutations were excluded from the comparative analysis of molecular subgroups. Yang and *al.* reported that CIT did not statistically improve PFS compared to chemotherapy alone from a retrospective cohort of 210 patients with HER2 mutations (mPFS of 5.20 months [95% CI 3.64-6.76] versus 4 months [2.70-5.37], HR 0.77 [95% CI 0.52-1.14], $p = 0.20$) (141). Nevertheless, the Kaplan-Meier curves seems to be in favor of CIT in this study. Saalfed and *al.* show better outcomes with CIT (mPFS of 6 months and ORR of 52%) compared to ICI alone (mPFS of 4 months and ORR of 16%) in 61 patients with HER2 mutations (109).

We reported poorer results in these patients but the number of patients was very small, which may have led to sampling bias.

In our study, patients with BRAF mutations derived the greatest benefit from CIT. These results are mainly driven by BRAF V600E patients although most of them were non-smokers and only one had a high expression of PDL1 $\geq 50\%$. A case report also showed a prolonged response to CIT in a non-smoker BRAF V600E NSCLC patient (152). Retrospective studies that have investigated the efficacy of immunotherapy alone in patients with BRAF mutations have reported a median PFS in the range of 1.5 and 5.3 months (153).

Our results suggest that CIT could be particularly interesting in case of BRAF mutations, and especially in case of BRAF V600E mutations, but further studies are needed due to the small size of the subgroup.

With a mPFS of 1.54 months (95% CI 1.22-NR), a 6-month PFS rate of 17% and a ORR of 17%, patients with MET exon 14 mutations or MET amplification showed the lowest outcomes. PFS was similar in the two patients with MET amplification (1.48 and 1.61 months) but was variable in the four patients with MET exon 14, ranging from 0.61 months to 8.57 months. Experimental studies suggest that the MET/HGF axis plays an immunomodulatory role in the tumor microenvironment (154,155) but favorable outcomes has been reported in several studies evaluating anti-PD1 or anti-PDL1 single agent regiment in case of MET exon 14 mutations or MET amplification (153). Given this discordance in results and the very small number of patients with MET alterations included, further studies are needed to assess the efficacy of CIT in this population. However, the advanced age of patients with MET alterations may explain at least in part the low results obtained in our study (156)

PFS did not differ between KRAS subgroup and no oncogenic driver subgroup (HR 0.85 [95% CI 0.59-1.23], $p = 0.40$ after adjustment), even though the proportion of patients with high PDL1 $\geq 50\%$ expression was larger in case of KRAS mutation. These results are consistent with an exploratory analysis of the Keynote 189 trial with showed a mPFS of 9 months (95% CI 7-14) in KRAS^m patients and in KRAS^{wt} patients (157). However, two meta-analyses showed that KRAS mutation is a potential biomarker for survival benefits to ICI with or without chemotherapy (120,158).

By contrast, survival data were inferior in the KRAS^m subgroup (mOS of 11.7 months and mPFS of 4.8 months) compared with the KRAS^{wt} group (mOS of 19.5 months and mPFS of 6.8 months) with atezolizumab – carboplatine – paclitaxel in the Impower 150 trial (142). Nevertheless, the benefits appeared to be comparable between KRAS^m and

KRAS^{wt} patients with the ABCP combination, suggesting that the addition of bevacizumab to CIT may be of value in case of KRAS mutation.

As previously reported, PDL-1 was correlated with better responses, including in the EGFR/ALK/ROS1/RET sub-group (69,92,100). We also described the impact of other histomolecular factors on CIT efficacy.

STK11 mutations appear to be a poor prognostic factor in the whole cohort and particularly in KRAS sub-group. The negative predictive value of STK11 inactivation towards ICI has also been reported by several studies, including Impower 150 trial. (124,142). Although they are strongly associated with smoking, it has been shown that STK11 mutations result in a cold immunosuppressive environment characterized by a low PDL1 tumoral expression and a low density of lymphocytes T CD8⁺ (124). Among the 37 patients harboring STK11 mutations in our study, 51% had PDL1 TPS of less than 1% and only one had PDL1 TPS \geq 50%. However, the low expression of PDL1 appears insufficient to explain the fact that STK11 patients do not seem to benefit from the synergetic immunological effects of CIT. Further investigations are needed to understand the pathways underlying the impairment of the antitumor immune response in case of STK11 mutations but several and potentially interrelated mechanisms have already been outlined: reduced STING expression resulting in downregulation of chemokines and interferons, metabolic competition with immune effector cells, increased IL-23 and CCL9 expression leading to impaired T-cell infiltration, elevated TGF- β and IL-6 expression, enhanced prostaglandin production and impaired of dendritic cells recruitment through the activation of the Wnt/ β -catenin (126). Nevertheless, the correlation between STK11 inactivation and poor response is not

stringent since 5 patients with STK11 mutations showed prolonged PFS ranging from 12 to 36 months in our study.

Two series have reported that TP53 mutations, which lead to an accumulated DNA damage and thus to an increased tumor immunogenicity, is positively correlated with response to ICI (130,131). In our study, no difference in overall survival and progression free survival was observed according to TP53 mutations in the whole cohort and in the KRAS sub-group. In the IMpower150 trial, TP53 mutations seemed to be associated with better outcomes with ABCP but no with ACP in KRAS patients (142).

MET overexpression, which is commonly considered as a poor prognostic factor (159), was associated with longer PFS in our study. To our knowledge, this is the first description of ICI based regimen efficacy in case of MET overexpression. The reason why MET overexpression is positively correlated with survival while MET exon 14 mutations and MET amplifications patients showed poor outcomes is unclear. The lack of correlation between MET overexpression and efficacy of MET inhibitors and the differences in patients characteristics, especially in terms of age and smoking status, might provide some points of consideration (23,32,33). Furthermore, the MET receptor is not only expressed by tumor cells but also by immune cells in the tumor microenvironment raising the possibility of an immunomodulatory role for this axis (155).

102 immune-mediated adverse events of any grade, involving 70 patients (36%), were recorded. Eleven of these events were severe (grade ≥ 3) including two events of grade 5. The proportion of irAEs recorded was higher than in the Keynote 189 trial (22.7% in the pembrolizumab combination arm) but the rate of events of grade 3 to 5 were quite similar. Among the 9 patients who received CIT following a tyrosine kinase inhibitor, 6

patients (67%) presented at least one irAE of grade 1 or 2 and one presented a severe irAE. It has been reported that immunotherapy followed by osimertinib is associated with a greater risk of developing severe irAERs due to the prolonged receptor occupancy of anti-PDL1 antibodies. In contrast, osimertinib followed by subsequent anti-PD(L1) does not appear to cause an excess risk of toxicity because of its relatively short half-life (160).

Because an increased risk of potentially severe adverse events related to the addition of pembrolizumab, it is necessary to define whether or not the CIT combination provides benefit to patients with targetable oncogenic alterations compared to chemotherapy alone through comparative study.

The small number of patients in some molecular sub-groups, especially for HER2 and MET sub-groups, represents the main limitation of this work. Our study has also limitations due to its retrospective design including reporting bias, lack of centralized radiologic assessment and variable scanning intervals.

The main strengths of our study are the size of the overall population and the fact that mutational analyses were conducted in a centralized and standardized manner.

In conclusion, in our real-world retrospective study the efficacy of the combination of pembrolizumab with pemetrexed and platinum-based chemotherapy combination differed according to molecular profiling but did not appear to be affected by EGFR, ALK, ROS1 and RET alterations. These results, which need to be confirmed, may question the systematic exclusion of these patients from trials evaluating CIT combinations, and suggest that adding anti-PD1 agents to chemotherapy may be a valuable option for patients with an oncogenic driver. Two ongoing phase III trials will soon help to determine the role of CIT in patients with EGFR mutations.

The histomolecular response factors evaluated in our study, which are those currently available in clinical practice, reflect the biological diversity of NSCLC but do not seem to be sufficient to predict the response to CIT. The identification of new biomarkers, especially immunological scores, could provide a better understanding of the complexity of the tumor microenvironment and could help to optimize treatments through a personalized approach.

SUPPLEMENTARY APPENDIX

Supplementary Appendix Table S1	Baseline characteristics of patients in each oncogenic drivers sub-groups					
	No driver (n = 77)	KRAS (n = 80)	EGFR and fusions (n = 16)	BRAF (n = 11)	MET exon 14 or MET amp (n = 6)	HER2 (n = 5)
Gender — n (%)						
Men	60 (78)	44 (55)	7 (44)	6 (55) (V600E: 1/6)	4 (67)	3 (60)
Women	17 (22)	36 (45)	9 (56)	5 (45) (V600E: 5/6)	2 (33)	2 (40)
Age — median (range)	62 (40-78)	62 (38-77)	55 (34-72)	64 (45-77)	72 (47-75)	69 (54-73)
Smoking history — n (%)						
Never-smoker	8 (10)	3/80 (4) (G12D: 2/5)	5 (31)	4 (36) (V600E: 4/6)	2 (33)	3 (60)
Current or former smoker	69 (90)	77 (96)	11 (69)	7 (64)	4 (67)	2 (40)
< 5 PY	2 (2.5)	1 (1.25)	1 (6)	0	1 (17)	0
≥ 5 PY	63 (82)	74 (91)	10 (62.5)	7 (64) (V600E: 2/6)	2 (33)	2 (40)
Unknown	4 (5)	2 (2.5)	0	0	1 (17)	0
Previous therapy — n (%)	10 (13)	11 (14)	11 (69)	4 (36)	3 (50)	2 (40)
PDL1 — n (%)						
< 1%	35 (45.5)	27 (34)	0	2 (18) (V600E: 0/6)	2 (33)	2 (40)
≥ 1%	38 (49)	50 (62.5)	12 (75)	8 (73) (V600E: 5/6)	4 (67)	3 (60)
≥ 50%	10 (13)	29 (36)	9 (56)	3 (27) (V600E: 1/6)	2 (33)	2/5 (40)
Unknown	4 (5)	3 (3.75)	4 (25)	1 (9) (V600E)	0	0

**Supplementary
Appendix Table S2**

Baseline characteristics of patients with MET overexpression, TP53 mutations or STK11 mutations

	MET ≥ 2+ (n = 34)	TP53 (n = 102)	STK11 (n = 37)
Gender — n (%)			
Men	19 (58)	66 (65)	26 (70)
Women	14 (42)	36 (35)	11 (30)
Age — median (range)	63.9 (43-75)	60.4 (34-78)	64.1 (40-74)
Smoking history — n (%)			
Never-smoker	4 (12)	9 (9)	1 (3)
Current or former smoker	29 (88)	93 (91)	36 (97)
< 5 PY	1 (3)	2 (2)	0
≥ 5 PY	28 (85)	85 (83)	36 (97)
Unknown	0	6 (6)	2
Histology — n (%)			
Adenocarcinoma	33 (100)	88 (86)	33 (89)
Not otherwise specified	0	14 (14)	4 (11)
Brain metastases — n (%)	17 (52)	44 (43)	12 (32)
Liver metastases — n (%)	3 (9)	23 (22.5)	5 (14)
Previous therapy — n (%)	9 (26)	22 (21.5)	8 (22)
PDL1 — n (%)			
< 1%	6 (18)	29 (28)	19 (51)
≥ 1%	25 (76)	69 (68)	15 (41)
≥ 50%	14 (42)	34 (33)	1 (3)
Unknown	2 (6)	4 (4)	2 (5)
Oncogenic drivers — n (%)			
KRAS (n = 80)	6 (18)	36 (35)	16 (43)
EGFR (n = 8)	2 (6)	5 (5)	0
ALK, ROS1 or RET (n = 7)	0	4 (4)	0
BRAF (n = 11)	1 (3) (V600E: 1)	5 (5) (V600E: 1)	1 (3) (V600E: 0)
MET exon 14 (n = 4)	1 (3)	0	0
MET amp (n = 2)	2 (6)	1 (1)	0
HER2	2 (6)	2 (2)	1 (3)
No (n = 77)	31 (94)	49 (48)	19 (51)
Co-mutations — n (%)			
TP53	18 (55)	/	18 (49)
STK11	2 (6)	18 (18)	/
MET ≥ 2+ — n (%)	/	19 (19)	2 (6)

III. DISCUSSION

A. Les principaux résultats

1. La population de l'étude

La population de l'étude était proche de celle de l'essai clinique Keynote 189, notamment en ce qui concerne l'âge, le sexe, le statut tabagique et l'expression de PDL1 (69). En revanche, la proportion de patients avec un état général altéré (*Performance status* à 2) à l'initiation de la CIT était plus importante dans notre étude (13% versus 0.2% pour le bras CIT de l'essai Keynote 189), de même que la proportion de patients avec des métastases cérébrales (32% versus 18%). Les données de la littérature montrent que la présence de métastases cérébrales n'affecte pas l'efficacité des anti-PD(L)1 en monothérapie ou en association à la chimiothérapie (69,161). En revanche, le *performance status* ≥ 2 constitue un facteur indépendant de mauvais pronostic (149,162). Par ailleurs, 31 patients (16%) avaient déjà reçu au moins une ligne de traitement systémique pour une maladie métastatique. Certains de ces patients étaient lourdement prétraités ce qui a pu aussi impacter négativement les résultats.

Le sous-groupe des patients avec mutations KRAS et le sous-groupe des patients sans altérations oncogéniques représentaient à part égale 80% des patients inclus. La répartition des drivers oncogéniques était cohérente avec les données de la littérature, tenant compte du fait que l'association CIT ne fait actuellement pas partie de la prise en charge standard des patients avec altérations EGFR et ALK (12). La fréquence des mutations TP53 et STK11 observée dans notre étude (52% et 20% respectivement) est également similaire à celle rapportée dans la littérature (13,126).

2. L'efficacité de l'association CIT en fonction des sous-groupes mutationnels

La survie sans progression n'était pas statistiquement différente entre les sous-groupes EGFR/ROS1/ALK/RET, KRAS, BRAF et absence d'altération oncogénique ($p = 0,54$), y compris après ajustement sur l'âge, le *performance status*, le statut tabagique, le stade tumoral et le nombre de ligne(s) préalablement reçue(s). La SSP ne différait pas non plus entre les patients avec mutations EGFR et ceux avec réarrangements ALK, ROS1 et RET ($p = 0,98$).

Au sein du sous-groupe BRAF, la SSP était significativement plus longue chez les patients avec mutations V600E par rapport à ceux avec mutations non-V600E (SSPm de 20,31 mois [IC 95% 2.60-NR] versus 8,45 [0.69-NR], $p = 0.021$).

Les patients avec mutations HER2 présentait une SSP moindre (SSPm de 3,91 mois [IC 95% 2.56-NR] et taux de SSP à 6 mois de 0%). Les patients avec altérations de MET étaient ceux qui présentait la plus faible SSP (SSPm de 1,55 mois [0.62-NR] et taux SSP à 6 mois de 17%). Cependant, ces patients ont été exclus des analyses comparatives compte tenu de leur faible nombre.

Parmi les patients longs répondeurs avec une SSP ≥ 12 mois, 2 étaient porteurs de mutations EGFR (mutation L858R et mutations multiples de l'exon 18), 2 d'un réarrangement ALK, 4 d'une mutation BRAF V600E, 21 d'une mutation KRAS mutations et aucun ne présentait de mutation HER2 ou d'altérations de MET.

Le TRO était comparable pour les sous-groupes EGFR/ALK/ROS1/RET, KRAS et absence de driver oncogénique (44 %, 46 % et 48 % respectivement). Dans le sous-groupe BRAF, le TRO est de 55% alors qu'il n'était que de 17% dans le sous-groupe MET.

Ces résultats suggèrent que l'efficacité de l'association CIT ne semble pas être affectée par la présence d'altérations EGFR, ALK, ROS1 et RET alors même qu'elles sont associées à un micro-environnement tumoral « froid ». En l'absence de groupe comparateur, il n'est cependant pas possible d'évaluer si le bénéfice est porté par l'ajout de l'immunothérapie, au travers une synergie entre les effets immunologiques de la chimiothérapie et l'ICI, ou par la chimiothérapie seule.

Les résultats d'une étude rétrospective, ayant évalué la CIT (n = 12) en comparaison à la chimiothérapie seule (n = 57) à progression sous osimertinib, suggèrent que la CIT n'apporterait pas de bénéfice en SG chez les patients avec mutation EGFR (SGm de 10,9 mois dans le groupe CIT versus 12,0 mois dans le groupe chimiothérapie seule ; HR 1,67 [IC 95% 0,86-3,23] (140). La SSP n'était pas rapportée dans cette étude.

Dans l'essai clinique Impower 130, l'atezolizumab en association à une chimiothérapie par paclitaxel et carboplatine ne conférait pas de bénéfice de SG ou de SSP en comparaison à la chimiothérapie seule dans le sous-groupe des patients avec mutation de l'EGFR ou réarrangement de ALK (138). En revanche, dans l'essai de phase II Prolung, les patients avec mutations EGFR traités par pembrolizumab – docetaxel présentaient une SSP significativement plus longue que ceux traités par docetaxel seul. Un essai non comparatif de phase II ayant évalué l'efficacité de l'association pembrolizumab – carboplatine – pemetrexed et ayant inclus 33 patients avec mutations EGFR a par ailleurs montré des résultats intéressants chez ces patients avec une SSP médiane de 8,3 mois (IC 95% 7,2-16,5), une SG médiane de 22,2 (20,6-NE) et un taux de réponse de 42% (163). Les 7 patients porteurs d'un réarrangement ALK présentaient des résultats moindres dans cette étude à savoir une

SSP médiane de 2,9 mois (IC 95% 1,1-NE), une SG médiane de 2,9 mois (1,1-NE) et un taux de réponse de 29%).

Les résultats de deux essais cliniques de phase III actuellement en cours, l'essai Keynote 789 et l'essai Checkmate 722, permettront de préciser la place de l'immunothérapie chez les patients avec mutations EGFR. L'essai clinique Keynote 789 évalue l'efficacité de l'association pembrolizumab – pemetrexed – chimiothérapie à base de platine par rapport à la chimiothérapie seule, à progression sous osimertinib, chez les patients atteints de CBNPC de stade IV avec mutation de l'EGFR, avec pour hypothèse statistique principale que l'association CIT a une efficacité supérieure en termes de SSP et de SG. L'essai clinique Checkmate 722 étudie le nivolumab, en association au pemetrexed et à un sel de platine ou en association à l'ipilimumab en comparaison à la chimiothérapie seule chez les patients atteints de CBNPC de stade IV ou récidivant sans mutation EGFR T790M, à progression après une première ligne de traitement par inhibiteur de tyrosine kinase anti-EGFR.

Dans notre étude, les patients avec mutations HER2 présentaient des résultats inférieurs aux patients EGFR alors qu'ils sont associées à des caractéristiques cliniques et physio-pathologiques voisines et à un profil de réponse aux ICI proche (92,151,164).

Les résultats obtenus sont également inférieurs à ceux rapportés par d'autres études rétrospectives ayant évalué l'efficacité de l'association CIT chez ces patients. Dans l'étude menée par Yang et *al.*, la SSP médiane était de 5,20 mois (IC 95% 3,64-6,76) (141). Saalfed et *al.* et Tian et *al.* rapportent quant à eux une SSPm de 6 mois et 8 mois respectivement (109,165) chez ces patients.

Dans notre étude, seuls 5 patients présentaient une mutation d'HER2. Parmi eux, 3 étaient non-fumeurs, 2 avaient déjà reçu 1 ligne de traitement systémique par chimiothérapie, 2 avaient plus de 70 ans, 1 avait un état général altéré (PS 2) et 3 avaient des métastases hépatiques. Deux patients présentaient un taux de PDL1 < 1%, 1 un taux entre 1 et 49% et 2 un taux \geq 50%. La proportion de patients âgés et présentant des métastases hépatiques étaient plus importante dans notre étude par rapport à ce qui est habituellement décrit dans la littérature (166), ce qui a pu sensiblement impacter les résultats compte tenu du très faible effectif de patients au sein de ce sous-groupe (156,167).

Les résultats observés dans notre étude étaient néanmoins supérieurs à ceux rapportés par plusieurs études rétrospectives ayant évalués l'immunothérapie en monothérapie dans les CBNPC avec mutations HER2 (141). A titre d'exemple, la SSPm était de 2,5 mois et le TRO de 7% pour ces patients dans la cohorte Immunotarget (92).

De la même manière que pour les patients EGFR, ALK, ROS1 ou RET, notre étude ne permettait pas de tester l'hypothèse d'une synergie entre chimiothérapie et immunothérapie pour les CBNPC HER2. Yang et *al.* ont montré dans une étude rétrospective que la CIT n'était pas associée à une amélioration significative de la SSP en comparaison à la chimiothérapie seule chez ces patients (SSPm de 5,20 mois [IC 95% 3,64-6,76] contre 4 mois [2,70-5,37] respectivement ; HR 0,77 [0,52-1,14], $p = 0,20$) (28). Néanmoins, les courbes de Kaplan-Meier semblaient être en faveur de la combinaison CIT dans cette étude.

Les patients avec mutations BRAF étaient ceux qui tiraient le plus de bénéfice de l'association CIT dans notre étude. Ces résultats étaient principalement portés par les

patients BRAF V600E bien que qu'ils fussent pour la plupart non-fumeurs. Par ailleurs, un seul patient avec mutation BRAF V600E présentait une forte expression de PDL1 à 50%. Une réponse prolongée a également été décrite dans un *case report* chez un patient non-fumeur atteint de NSCLC BRAF V600E traité par CIT (SPP de 20 mois) (152).

Les études rétrospectives qui ont évalué l'efficacité de l'immunothérapie seule chez les patients présentant des mutations BRAF ont rapporté des résultats hétérogènes avec une SSP médiane comprise entre 1,5 et 9,8 mois sans qu'il ne semble exister de corrélation entre la réponse et le type de mutation BRAF (V600E versus non-V600E) (92,105,107,110,111,164).

Les résultats observés dans notre étude suggèrent ainsi que la combinaison CIT pourrait être particulièrement intéressante en cas de mutations BRAF, et notamment BRAF V600E. Des études complémentaires sont cependant nécessaires en raison de la petite taille du sous-groupe.

La différence de SSP observée entre les mutations BRAF V600E et BRAF non-V600E reflète possiblement le fait que les mutations V600 (classes I) induisent une plus forte activation de la kinase BRAF comparé aux mutations non-V600 (classes I et II).

Avec une SSP médiane de 1,54 mois (1,22-NR), un taux de SSP à 6 mois de 17 % et un TRO de 17 %, les patients avec altérations de MET étaient ceux qui présentaient les résultats les plus faibles. La SSP était similaire chez les 2 patients avec mutations d'amplification de MET (1,48 et 1,61 mois) mais était variable chez les 4 patients avec mutations MET exon 14, allant de 0,61 mois à 8,57 mois.

Seuls 6 patients présentaient une altération de MET. Parmi eux, 4 avaient plus de 70 ans, 2 étaient non-fumeurs, 1 avait un état général altéré (PS 2) et 3 avaient déjà reçu

au moins une ligne de traitement systémique. Aucun ne présentait de métastases hépatiques.

Il a été montré que l'activation de l'axe MET/HGF induit une augmentation de l'expression de PDL1, ce qui laisse penser que les ICI pourraient être intéressants dans les CBNPC avec altérations de MET. Néanmoins, la signalisation de MET entraîne également l'expression de IDO qui a un effet inhibiteur sur les cellules lymphocytaires T et les cellules NK. Par ailleurs, il a été montré que l'HGF favorise l'expansion des cellules dendritiques tolérogènes, des MDSCs et des lymphocytes T régulateurs, augmente l'expression de cytokines immunosuppressives inflammatoires et freine les fonctions effectrices des lymphocytes T CD8+.

Dans la cohorte Immunotarget, les patients avec altérations de MET présentaient cependant des résultats intéressants, similaires à ceux observés pour les patients KRAS (SSPm de 3,2 mois [IC 95% 1,7-6,2], taux de SSP à 6 mois de 37% , un taux de SSP à 12 mois de 23%). D'autres études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI en monothérapie chez ces patients ont également rapporté des résultats favorables dans cette population (105,107).

Dans notre étude, les patients avec altérations de MET présentaient des résultats inférieurs. Compte tenu de cette discordance dans les résultats et du très faible nombre de patients avec altérations de MET inclus, d'autres études sont nécessaires pour préciser l'efficacité de la CIT dans cette population. Toutefois, l'âge avancé des patients avec altérations de MET pourrait expliquer au moins en partie les faibles résultats obtenus (156,168).

Les mutations KRAS, qui induisent des phénomènes inflammatoires et immunomodulateurs pro-tumoraux au sein du micro-environnement tumoral, constituent un facteur de bonne réponse vis-à-vis des ICI (120,169).

Dans notre étude, la SSP ne différait pas entre les patients avec mutations KRAS et ceux sans driver oncogénique, alors même que la proportion de patients avec une expression forte de PDL1 $\geq 50\%$ était plus importante dans le sous-groupe KRAS. Ces résultats sont concordants avec une analyse exploratoire de l'essai clinique Keynote 189 qui retrouvait des résultats similaires entre les sous-groupes KRAS^m et KRAS^{wt} (157). Cependant, dans l'essai Impower 150, les données de survie étaient inférieures dans le sous-groupe KRAS^m (SGm de 11,7 mois et SSPm de 4,8 mois) par rapport au groupe KRAS^{wt} pour ACP (SGm de 19,5 mois et SSPm de 6,8 mois) (142)

3. Les autres facteurs histo-moléculaires étudiés : expression de PDL1, surexpression de MET et co-mutations STK11 et TP53

De manière cohérente avec les données de la littérature, l'expression de PDL1 était corrélée à la SSP et à la SG dans la population globale, mais aussi chez les patients avec altérations EGFR/ALK/ROS1/RET (69,92,100).

Les mutations STK11 constituaient un facteur de mauvais pronostic dans la population globale et chez les patients KRAS. L'impact négatif des co-mutations STK11 sur la survie a été démontrée dans l'essai Impower 150 ainsi que dans plusieurs études rétrospectives ayant évalué l'efficacité des ICI en monothérapie (124,142).

Bien qu'elles soient fortement associées au tabagisme, les mutations inactivatrices de STK11 conditionnent un micro-environnement tumoral « froid » caractérisé par une faible expression de PDL1 et une faible infiltration en lymphocytes T CD8⁺ (124). Dans le contexte de CBNPC avec mutations STK11, l'association de la chimiothérapie à l'immunothérapie ne semble pas permettre de restituer une réponse antitumorale efficace. De plus amples investigations sont nécessaires pour en comprendre les raisons. Plusieurs mécanismes permettant d'expliquer la déficience de la réponse

immunitaire antitumorale en cas de mutations de STK11 peuvent néanmoins être évoqués avec, en premier lieu, l'inhibition de l'expression de STING qui entraîne une diminution de l'expression et du signal des interférons et une diminution de l'expression de diverses cytokines pro-inflammatoires. D'autres mécanismes peuvent également être impliqués tels que :

- La stimulation de la transcription de c-myc qui, via l'augmentation de l'expression de cytokines d'IL-23 et CCL9, entraîne une diminution de l'infiltration tumorale en lymphocytes T effecteurs,
- L'augmentation de la production de prostaglandines,
- L'activation de la voie Wnt – β -caténine qui altère le recrutement des cellules dendritiques et diminue d'expression de CCL4,
- Une diminution de l'antigénicité de la tumeur du fait de modifications épigénétiques,
- Une compétition métabolique avec les cellules immunitaires (126).

La recherche de mutations KEAP1 qui constituent également un marqueur de mauvais pronostic vis-à-vis de l'immunothérapie, ne faisait pas partie des panels NGS et n'a donc pas été étudiée dans ce travail (126).

Il a été montré que les mutations de TP53 constituent un facteur prédictif de réponse aux ICI, notamment de par leur association avec un microenvironnement tumoral inflammatoire, à une forte expression de PDL1 et à un TMB élevé (89,125,130)

Dans notre étude, la SSP et la SG n'étaient pas significativement impactées par les mutations de TP53 que ce soit dans la population globale ou chez les patients avec mutations KRAS. Néanmoins, l'aspect des courbes de SSP suggèrent une prévalence plus importante des mutations TP53 chez les patients long-répondeurs.

Nous avons enfin décrit de manière originale l'efficacité de la CIT en fonction de la surexpression de MET. Avec un seuil de positivité fixé à 2+, la surexpression de MET était positivement corrélée à la SSP mais aussi à la SG.

Les réponses observées chez les patients avec surexpression de MET et ceux avec amplification ou mutations de MET semblent à première vue contradictoires. Néanmoins, plusieurs éléments peuvent expliquer cette discordance. Les caractéristiques des patients avec surexpression de MET et de ceux avec amplification ou mutations de MET sont sensiblement différentes notamment en termes d'âge et de statut tabagique. En outre, la surexpression de MET est imparfaitement corrélée avec l'activation du récepteur (32–34). Par ailleurs, le récepteur MET peut être exprimé par les cellules tumorales mais aussi par les cellules immunitaires du micro-environnement tumoral (155). Il a notamment été montré que l'expression de MET par les polynucléaires neutrophiles et les lymphocytes T CD8 associés à la tumeur est corrélée à une augmentation de leur propriétés cytotoxiques.

L'expression de MET n'ayant été évaluée que chez 37% des patients inclus (n = 72), des études complémentaires sont néanmoins nécessaires pour confirmer ces résultats.

B. Les forces et limites de l'étude

La taille de la population globale constitue la principale force de notre travail permettant d'étudier sur un large éventail de patients l'efficacité de l'association CIT en vie réelle. Notre étude est par ailleurs, à notre connaissance, la première à avoir décrit l'activité clinique de l'association pembrolizumab – chimiothérapie en fonction des altérations oncogéniques, des co-mutations TP53 et STK11 et de la surexpression de MET.

Nous avons contrôlé le biais de mémorisation propre aux travaux rétrospectifs en menant une recherche systématique des patients au moyen des logiciels de prescription.

Les analyses mutationnelles ont été réalisées de manière centralisée permettant de limiter l'hétérogénéité des techniques et des panels moléculaires. Pour 2 patients, l'un porteur d'une insertion dans l'exon 20 de l'EGFR et l'autre d'une mutation KRAS G12C, le statut moléculaire a été déterminé en 2015 et 2016 par pyroséquençage, SNaPshot et analyse des fragments et non au moyen d'un panel NGS. En dehors du fait que la présence d'une co-mutation TP53 ou STK11 n'était pas connue pour ces 2 patients, cette variation dans la technique d'analyse ne semble pas avoir entraîné de biais de classement.

La réponse tumorale était évaluée, lorsque cela était possible, selon les critères RECIST v1.1 qui sont ceux employés dans les essais cliniques portant sur l'association CIT.

Néanmoins, notre étude souffre de plusieurs limites.

La taille des sous-groupes mutationnels EGFR/ALK/ROS1/RET, BRAF, HER2 et MET constitue la principale limitation de notre étude. Les résultats obtenus dans ces sous-groupes doivent donc être considérés avec précaution car possiblement en lien avec des fluctuations d'échantillonnage. Du fait d'un effectif très limité, les sous-groupes HER2 et MET ont en outre été exclus des analyses comparatives de la SSP et de la SG. Par ailleurs, l'absence de différence observée entre les patients EGFR/ALK/ROS1/RET, BRAF, KRAS et sans altération oncogénique peut être liée à un manque de puissance.

Le fait que l'analyse moléculaire ait été effectuée sur ADN tumoral circulant et non sur prélèvement tissulaire ou cytologique chez 9 patients a pu engendrer un biais de classement. En effet, aucune anomalie moléculaire n'a été détectée chez 4 d'entre eux, sans que l'on ne puisse savoir si ce résultat est lié à un manque de sensibilité de la technique ou non. Une mutation EGFR L858R a notamment été identifiée secondairement 2 ans après l'arrêt de la CIT chez l'un de ces patients au moyen d'une nouvelle analyse de l'ADNtc.

Le caractère multicentrique de notre étude est responsable d'une hétérogénéité dans l'évaluation radiologique, à la fois en termes de rythmicité des examens que d'interprétation des résultats, notamment en ce qui concerne l'évaluation par TEP-scanner. Par ailleurs, pour 8 patients sur les 195 au total, la réponse tumorale a été recueillie sur les seules conclusions du référent médical sans que les modalités d'évaluation ne soient précisément connues.

La réponse tumorale a pu être évaluée de manière erronée chez certains patient, les critères RECIST 1.1 ne prenant pas en compte le phénomène de pseudo-progression qui peut être aussi observé sous CIT (170).

En outre, la durée de suivi de 20 mois est insuffisante au regard des survies sans progression prolongées observées chez certains sous-groupes de patients. Des analyses actualisées à 2 ans et 3 ans seraient ainsi souhaitables.

L'exclusion des 5 patients qui ont reçu un seul cycle de CIT précédé ou suivi d'un traitement par platine – pemetrexed seul et/ou d'un traitement par anti-PD1 seul est par ailleurs discutable. Parmi eux, 4 présentaient une mutation isolée de TP53 et 1 un réarrangement ALK.

Enfin, en l'absence de groupe comparateur constitué de patients traités par chimiothérapie seule, notre étude ne permet d'évaluer l'intérêt de l'association CIT par rapport à la chimiothérapie seule chez les patients avec altérations oncogéniques.

C. Les autres biomarqueurs de réponse à l'immunothérapie en cours d'évaluation

Dans notre étude, seuls les facteurs histo-moléculaires de réponse à l'immunothérapie actuellement disponibles en pratique clinique ont été évalués. Néanmoins l'expression de PDL1, la présence d'altérations oncogéniques ciblables et la présence de co-mutations dans les gènes suppresseurs de tumeurs TP53 et STK11 n'apparaissent pas suffisants pour prédire la réponse aux traitements basés sur les ICI. Une attention croissante est ainsi consacrée à l'identification de biomarqueurs prédictifs de réponse alternatifs ou complémentaires.

La charge mutationnelle tumorale a, à ce jour, été évaluée de manière prospective et comparative seulement pour l'association nivolumab – ipilimumab (79) et n'est actuellement pas recommandée dans la prise en charge des CBNPC (173). Ce marqueur souffre en effet de plusieurs limitations : absence de place définie dans l'algorithme de prise en charge, absence d'harmonisation des seuils et des techniques, délai de rendu des résultats, coût matériel et financier, etc. Le pembrolizumab a toutefois été approuvé par la Food and Drug Administration chez les patients présentant un TMB élevé (≥ 10 m/Mb) quel que soit le type de tumeur sur la base d'une étude ancillaire de l'essai clinique de phase II Keynote 158 qui a évalué le pembrolizumab en 2^e ligne chez des patients atteints de cancers solides (174). Cette étude retrouvait un taux de réponse plus élevé chez les patients présentant un TMB élevé (29% [IC 95% 21-39] par rapport à ceux avec un TMB < 10 m/Mb (6% [5-8]). La

proportion de patients vivant à 3 ans était par ailleurs plus importante dans le groupe TMB élevé (32% versus 22%). Les mutations dans les gènes POLE (*DNA polymerase epsilon*) et POLD1 (*DNA polymerase delta 1*), qui sont impliqués dans les processus de réparation des erreurs de réplication de l'ADN, semblent également intéressantes pour prédire la réponse vis-à-vis des ICI (175).

L'expression de PDL1 par les cellules immunitaires du micro-environnement tumoral, sous la forme d'un score combiné associant l'expression de PDL1 par les cellules tumorales, les macrophages et les lymphocytes (CPS), est utilisée en pratique clinique pour guider l'accès au pembrolizumab dans les carcinomes urothéliaux de vessie, les cancers ORL, les cancers de l'œsophage, les cancers du sein triples négatifs et les cancers du col de l'utérus. En ce qui concerne les CBNPC, l'expression de PDL1 par les lymphocytes intra-tumoraux a été évaluée pour l'atezolizumab, en monothérapie ou en combinaison à la chimiothérapie dans les essais OAK, POPLAR, Impower 130 et Impower 150. Dans ces études, les patients qui présentaient expression forte de PDL1 ($\geq 50\%$) par la tumeur et/ou par les cellules immunitaires infiltrant la tumeur ($\geq 10\%$) tiraient un bénéfice supérieur de l'atezolizumab en SG.

Des scores immunologiques, permettant de tenir compte des diverses sous-populations de cellules immunitaires au sein du micro-environnement tumoral et ainsi de refléter la réponse immunitaire antitumorale sont également à l'étude. L'Immunoscore[®], qui repose sur la quantification des lymphocytes T CD3⁺ et des lymphocytes T CD8⁺ au sein de la tumeur a notamment démontré son intérêt pour préciser le pronostic des patients atteints de cancer du rectum et pour prédire la réponse à la chimiothérapie (176). En ce qui concerne les CBNPC, Zeng et *al.* ont

rapporté une forte corrélation entre un score immunohistochimique multiplex associant CD4, CD73, CD39, PDL1, TIM3 et IDO et la survie globale à 5 ans. Ce score était également corrélé à la survie sans maladie chez les patients présentant un CBNPC de stade I à II (177).

Ces biomarqueurs, combinés entre eux, pourraient à l'avenir permettre mieux caractériser la réponse immunitaire antitumorale et de mieux prédire la réponse aux traitements basés sur les ICI.

Par ailleurs de nouvelles stratégies de prise en charge fondées sur l'amplification de la réponse immunitaire antitumorale au moyen de thérapies combinées sont actuellement développées.

D. L'association atezolizumab – bevacizumab – carboplatine – paclitaxel

L'impact négatif du VEGF sur la réponse immunitaire antitumorale a justifié l'étude de combinaisons anti-PD(L)1 et anti-VEGF dans plusieurs cancers. Ces combinaisons ont notamment prouvé leur efficacité au cours d'essais cliniques de phase III dans les cancers du rein et les carcinomes hépato-cellulaires et sont utilisés dans ces indications en pratique clinique.

En ce qui concerne les CBNPC, l'association atezolizumab – bevacizumab – carboplatine – paclitaxel, évaluée dans l'essai clinique de phase III Impower 150, est indiquée en 1^{ère} ligne chez les patients atteints d'un CBNPC non-épidermoïde métastatique sans mutations EGFR ou réarrangement ALK. Néanmoins, la place de cette association vis-à-vis du pembrolizumab en monothérapie (pour les patients PDL1

≥ 50%) ou en combinaison à la chimiothérapie reste controversée. Dans ce contexte, aucun des patients inclus dans notre étude n'a été traité par ABCP.

Cependant, la combinaison ABCP pourrait constituer une option thérapeutique intéressante dans certaines sous-populations de patients.

Les analyses en sous-groupes de l'essai Impower 150 ont montré que l'atezolizumab en association avec le bevacizumab, le carboplatine et le paclitaxel confère un bénéfice en SG et en SSP chez les patients avec mutations EGFR exon19del ou L858R par rapport à BCP (SGm NR versus 17,5 mois ; HR 0,31 [IC 95% 0,11-0,83] et SSPm de 10,3 mois versus 6,1 mois ; HR 0,41 [0,23-0,75]), alors que ce bénéfice n'a pas été observé avec ACP en comparaison à la chimiothérapie seule (138,171). Un essai clinique de phase II non comparatif est actuellement en cours pour évaluer l'efficacité et la toxicité de l'association pembrolizumab – bevacizumab – chimiothérapie réarrangement ALK à progression sous alectinib pour les patients atteints d'un CBNPC avec réarrangement ALK.

L'association ABCP pourrait également apporter un bénéfice chez les patients KRAS^m avec co-mutations STK11 et/ou KEAP1 (SGm de 11,1 mois, de 7,9 mois et de 8,7 mois et SSPm de 6,0 mois, de 3,2 mois et de 3,4 mois pour les combinaisons ABCP, ACP et BCP respectivement). La combinaison ABCP semble également intéressante chez les patients avec co-mutations KRAS/TP53 (SGm de 30,6 mois, de 11,7 mois et de 9,5 mois et SSPm de 14,3 mois, de 4,6 mois et de 4,2 mois pour les combinaisons ABCP, ACP et BCP respectivement).

Par ailleurs, l'association ABPC confère un bénéfice significatif en SG (HR 0,52 [IC 95% 0,33-0,82]) et SPP (HR 0,41 [IC 95% 0,26-0,62]) chez les patients présentant des métastases hépatiques par rapport à BCP. Les métastases hépatiques constituaient un facteur de mauvais pronostic dans notre étude. L'impact négatif des métastases

hépatiques sur l'efficacité des ICI, en association ou non à la chimiothérapie, a également été décrit par plusieurs études pro- et rétrospectives (138,168). Il a été montré dans des modèles murins que les métastases hépatiques sont responsables d'un appauvrissement du pool lymphocytaire en captant les lymphocytes effecteurs à partir de la circulation et en induisant leur apoptose (172). Ces observations plaident en faveur d'une prise en charge spécifique des patients avec métastases hépatiques au moyen de traitements focaux ou d'une combinaison comprenant un anti-VEGF.

D'autres traitements immunomodulateurs en association à un ICI seul ou à une CIT sont en cours d'évaluation tels que les anticorps monoclonaux anti-TIGIT ou l'interleukine 12 couplée au vecteur L19.

A l'avenir, une prise en charge personnalisée fondée sur l'identification de biomarqueurs histo-moléculaires de réponse et/ou sur la présence de métastases hépatiques pourrait permettre d'optimiser la prise en charge des patients faiblement répondeurs à la CIT. Une intensification des thérapeutiques au moyen de triples combinaisons associant un ICI, un doublet de chimiothérapie et un autre traitement immunomodulateur tel qu'un anti-VEGF et/ou un traitement de radiothérapie pourrait potentiellement être intéressante chez ces patients afin d'amplifier la réponse immunitaire antitumorale et accroître les chances de réponse prolongée. Des études comparatives supplémentaires seront néanmoins nécessaires pour préciser l'intérêt de ces stratégies de prise en charge.

IV. CONCLUSION

L'efficacité de l'association CIT était variable en fonction du profil moléculaire mais ne semblait pas être affectée par les altérations EGFR, ALK, ROS1 et RET. Ces résultats, qui nécessitent d'être confirmés, pourraient remettre en question l'exclusion systématique de ces patients des essais cliniques évaluant les combinaisons CIT. Ils suggèrent également que l'association d'un ICI à la chimiothérapie peut être une option intéressante en présence d'une altération oncogénique ciblable. Deux essais de phase III permettront bientôt de déterminer le rôle des CIT chez les patients présentant des mutations de l'EGFR.

D'autres études sont nécessaires pour préciser la valeur pronostique des mutations BRAF, HER2 et MET, compte tenu du très faible nombre de patients dans ces sous-groupes.

Notre travail permet en outre d'appuyer les données de la littérature selon lesquelles les mutations STK11 sont associées à un pronostic défavorable.

Par opposition, la surexpression de MET, habituellement décrite comme un facteur de mauvais pronostic, était positivement corrélée à la survie sans progression et à la survie globale. Ces résultats originaux devront être confrontés à des études complémentaires.

Les facteurs histo-moléculaires évalués dans ce travail, s'ils permettent de refléter la diversité biologique des CBNPC, ne semblent néanmoins pas suffisants pour prédire la réponse à l'association CIT. L'identification de nouveaux biomarqueurs, notamment immunologiques, pourrait permettre de mieux appréhender la complexité du micro-environnement tumoral et d'optimiser la prise en charge des patients atteints de CBNPC, à travers une approche personnalisée.

V. REFERENCES

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(6):394-424.
2. Le cancer du poumon - Les cancers les plus fréquents [Internet]. [cité 5 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequents/Cancer-du-poumon>
3. Cho J, Choi SM, Lee J, Lee CH, Lee SM, Kim DW, et al. Proportion and clinical features of never-smokers with non-small cell lung cancer. *Chin J Cancer*. 8 févr 2017;36:20.
4. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global Epidemiology of Lung Cancer. *Ann Glob Health*. 85(1):8.
5. Schabath MB, Cote ML. Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. oct 2019;28(10):1563-79.
6. Cancer of the Lung and Bronchus - Cancer Stat Facts [Internet]. SEER. [cité 10 juill 2022]. Disponible sur: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/lungb.html>
7. Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al. EGFR Mutations in Lung Cancer: Correlation with Clinical Response to Gefitinib Therapy. *Science*. 4 juin 2004;304(5676):1497-500.
8. Weinstein IB. Addiction to Oncogenes--the Achilles Heal of Cancer. *Science*. 5 juill 2002;297(5578):63-4.
9. Baldacci S. Addiction oncogénique. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* (2019). 2019;(11):184-92.
10. Couraud PS. Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique. 2022;79.
11. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *The Lancet*. avr 2016;387(10026):1415-26.
12. Addeo A, Passaro A, Malapelle U, Luigi Banna G, Subbiah V, Friedlaender A. Immunotherapy in non-small cell lung cancer harbouring driver mutations. *Cancer Treat Rev*. mai 2021;96:102179.
13. Skoulidis F, Heymach JV. Co-occurring genomic alterations in non-small-cell lung cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*. sept 2019;19(9):495-509.
14. Han B, Tjulandin S, Hagiwara K, Normanno N, Wulandari L, Laktionov K, et al. EGFR mutation prevalence in Asia-Pacific and Russian patients with advanced NSCLC of adenocarcinoma and non-adenocarcinoma histology: The IGNITE study. *Lung Cancer*. nov 2017;113:37-44.
15. A Prospective, Molecular Epidemiology Study of EGFR Mutations in Asian Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer of Adenocarcinoma Histology (PIONEER) | Elsevier Enhanced Reader [Internet]. [cité 7 août 2022]. Disponible sur: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1556086415301842?token=EB6045F71DF3FCD3094E3F220842605357E0E8FA1850ED2A1674D156E8D014FF19E8D5F806C1708DDCE57FFF770643AB&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220807140610>
16. Masson E. Un regard simple sur la biologie du cancer bronchique : EGFR [Internet]. EM-Consulte. [cité 2 janv 2022]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/288632/un-regard-simple-sur-la-biologie-du-cancer-bronchi>
17. Kumagai S, Koyama S, Nishikawa H. Antitumour immunity regulated by aberrant ERBB family signalling. *Nat Rev Cancer*. mars 2021;21(3):181-97.
18. Masson E. Les mutations de *HER2* dans les cancers bronchiques : caractéristiques et perspectives thérapeutiques [Internet]. EM-Consulte. [cité 21 août 2022]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/767548/article/les-mutations-de-dans-les-cancers-bronchiques-cara>

19. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, Digumarthy SR, Costa DB, Heist RS, et al. Clinical Features and Outcome of Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer Who Harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol*. 10 sept 2009;27(26):4247-53.
20. Hess LM, Han Y, Zhu YE, Bhandari NR, Sireci A. Characteristics and outcomes of patients with RET-fusion positive non-small lung cancer in real-world practice in the United States. *BMC Cancer*. 5 janv 2021;21:28.
21. Cheng L, Lopez-Beltran A, Massari F, MacLennan GT, Montironi R. Molecular testing for BRAF mutations to inform melanoma treatment decisions: a move toward precision medicine. *Mod Pathol*. janv 2018;31(1):24-38.
22. Tissot C, Couraud S, Tanguy R, Bringuier PP, Girard N, Souquet PJ. Clinical characteristics and outcome of patients with lung cancer harboring BRAF mutations. *Lung Cancer*. janv 2016;91:23-8.
23. Drilon A, Cappuzzo F, Ou SHI, Camidge DR. Targeting MET in Lung Cancer: Will Expectations Finally Be MET? *J Thorac Oncol*. janv 2017;12(1):15-26.
24. Ramalingam SS, Cheng Y, Zhou C, Ohe Y, Imamura F, Cho BC, et al. Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: Preliminary data from the phase III FLAURA study. *Annals of Oncology*. 1 oct 2018;29:viii740.
25. Tong JH, Yeung SF, Chan AWH, Chung LY, Chau SL, Lung RWM, et al. MET Amplification and Exon 14 Splice Site Mutation Define Unique Molecular Subgroups of Non-Small Cell Lung Carcinoma with Poor Prognosis. *Clin Cancer Res*. 15 juin 2016;22(12):3048-56.
26. Schildhaus HU, Schultheis AM, Rüschoff J, Binot E, Merkelbach-Bruse S, Fassunke J, et al. MET amplification status in therapy-naïve adeno- and squamous cell carcinomas of the lung. *Clin Cancer Res*. 15 févr 2015;21(4):907-15.
27. Pennacchietti S, Michieli P, Galluzzo M, Mazzone M, Giordano S, Comoglio PM. Hypoxia promotes invasive growth by transcriptional activation of the met protooncogene. *Cancer Cell*. avr 2003;3(4):347-61.
28. Hwang CI, Matoso A, Corney DC, Flesken-Nikitin A, Körner S, Wang W, et al. Wild-type p53 controls cell motility and invasion by dual regulation of MET expression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 23 août 2011;108(34):14240-5.
29. Casadevall D, Gimeno J, Clavé S, Taus Á, Pijuan L, Arumí M, et al. MET expression and copy number heterogeneity in nonsquamous non-small cell lung cancer (nsNSCLC). *Oncotarget*. 15 mai 2015;6(18):16215-26.
30. Pyo JS, Kang G, Cho WJ, Choi SB. Clinicopathological significance and concordance analysis of c-MET immunohistochemistry in non-small cell lung cancers: A meta-analysis. *Pathology - Research and Practice*. 1 août 2016;212(8):710-6.
31. Titmarsh HF, O'Connor R, Dhaliwal K, Akram AR. The Emerging Role of the c-MET-HGF Axis in Non-small Cell Lung Cancer Tumor Immunology and Immunotherapy. *Frontiers in Oncology* [Internet]. 2020 [cité 10 sept 2022];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00054>
32. Watermann I, Schmitt B, Stellmacher F, Müller J, Gaber R, Kugler C, et al. Improved diagnostics targeting c-MET in non-small cell lung cancer: expression, amplification and activation? *Diagn Pathol*. 28 juill 2015;10:130.
33. Spigel DR, Edelman MJ, O'Byrne K, Paz-Ares L, Mocchi S, Phan S, et al. Results From the Phase III Randomized Trial of Onartuzumab Plus Erlotinib Versus Erlotinib in Previously Treated Stage IIIB or IV Non-Small-Cell Lung Cancer: METLung. *J Clin Oncol*. févr 2017;35(4):412-20.
34. Scagliotti G, Moro-Sibilot D, Kollmeier J, Favaretto A, Cho EK, Grosch H, et al. A Randomized-Controlled Phase 2 Study of the MET Antibody Emibetuzumab in Combination with Erlotinib as First-Line Treatment for EGFR Mutation-Positive NSCLC Patients. *J Thorac Oncol*. janv 2020;15(1):80-90.
35. Timar J, Kashofer K. Molecular epidemiology and diagnostics of KRAS mutations in human cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2020;39(4):1029-38.

36. Guibert N, Ilie M, Long E, Hofman V, Bouhlef L, Brest P, et al. KRAS Mutations in Lung Adenocarcinoma: Molecular and Epidemiological Characteristics, Methods for Detection, and Therapeutic Strategy Perspectives. *Curr Mol Med*. 2015;15(5):418-32.
37. Clinical Practice Living Guidelines – Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer | ESMO [Internet]. [cité 6 août 2022]. Disponible sur: <https://www.esmo.org/guidelines/guidelines-by-topic/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer>
38. Remon J, Lacroix L, Jovelet C, Caramella C, Howarth K, Plagnol V, et al. Real-World Utility of an Amplicon-Based Next-Generation Sequencing Liquid Biopsy for Broad Molecular Profiling in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO Precis Oncol*. 6 mars 2019;3:PO.18.00211.
39. Camidge DR, Ou SHI, Shapiro G, Otterson GA, Villaruz LC, Villalona-Calero MA, et al. Efficacy and safety of crizotinib in patients with advanced c-MET-amplified non-small cell lung cancer (NSCLC). *JCO*. 20 mai 2014;32(15_suppl):8001-8001.
40. Noonan SA, Berry L, Lu X, Gao D, Barón AE, Chesnut P, et al. Identifying the Appropriate FISH Criteria for Defining MET Copy Number-Driven Lung Adenocarcinoma through Oncogene Overlap Analysis. *J Thorac Oncol*. août 2016;11(8):1293-304.
41. Wolf J, Seto T, Han JY, Reguart N, Garon EB, Groen HJM, et al. Capmatinib in MET Exon 14-Mutated or MET-Amplified Non-Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 3 sept 2020;383(10):944-57.
42. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 10 janv 2002;346(2):92-8.
43. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, Biesma B, Vansteenkiste J, Manegold C, et al. Phase III Study Comparing Cisplatin Plus Gemcitabine With Cisplatin Plus Pemetrexed in Chemotherapy-Naive Patients With Advanced-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 20 juill 2008;26(21):3543-51.
44. Paz-Ares LG, de Marinis F, Dediu M, Thomas M, Pujol JL, Bidoli P, et al. PARAMOUNT: Final overall survival results of the phase III study of maintenance pemetrexed versus placebo immediately after induction treatment with pemetrexed plus cisplatin for advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 10 août 2013;31(23):2895-902.
45. Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A, et al. Paclitaxel-Carboplatin Alone or with Bevacizumab for Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 14 déc 2006;355(24):2542-50.
46. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, Cho BC, Gray JE, Ohe Y, et al. Overall Survival with Osimertinib in Untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC. *New England Journal of Medicine*. 2 janv 2020;382(1):41-50.
47. Cortot AB, Janne PA. Molecular mechanisms of resistance in epidermal growth factor receptor-mutant lung adenocarcinomas. *European Respiratory Review*. 1 sept 2014;23(133):356-66.
48. Schoenfeld AJ, Yu HA. The Evolving Landscape of Resistance to Osimertinib. *Journal of Thoracic Oncology*. 1 janv 2020;15(1):18-21.
49. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 28 oct 2010;363(18):1693-703.
50. Mok T, Camidge DR, Gadgeel SM, Rosell R, Dziadziuszko R, Kim DW, et al. Updated overall survival and final progression-free survival data for patients with treatment-naive advanced ALK-positive non-small-cell lung cancer in the ALEX study. *Ann Oncol*. août 2020;31(8):1056-64.
51. Skoulidis F, Li BT, Dy GK, Price TJ, Falchook GS, Wolf J, et al. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation. *N Engl J Med*. 24 juin 2021;384(25):2371-81.

52. Planchard D, Besse B, Groen HJM, Hashemi SMS, Mazieres J, Kim TM, et al. Phase 2 Study of Dabrafenib Plus Trametinib in Patients With BRAF V600E-Mutant Metastatic NSCLC: Updated 5-Year Survival Rates and Genomic Analysis. *Journal of Thoracic Oncology*. janv 2022;17(1):103-15.
53. Paik PK, Felip E, Veillon R, Sakai H, Cortot AB, Garassino MC, et al. Tepotinib in Non-Small-Cell Lung Cancer with MET Exon 14 Skipping Mutations. *N Engl J Med*. 3 sept 2020;383(10):931-43.
54. Drilon A, Oxnard GR, Tan DSW, Loong HHF, Johnson M, Gainor J, et al. Efficacy of Selpercatinib in RET Fusion–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 27 août 2020;383(9):813-24.
55. Gainor JF, Curigliano G, Kim DW, Lee DH, Besse B, Baik CS, et al. Pralsetinib for RET fusion-positive non-small-cell lung cancer (ARROW): a multi-cohort, open-label, phase 1/2 study. *The Lancet Oncology*. 1 juill 2021;22(7):959-69.
56. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, Farago AF, Albert CM, Rohrberg KS, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol*. avr 2020;21(4):531-40.
57. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw AT, Farago AF, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*. févr 2020;21(2):271-82.
58. Moro-Sibilot D, Cozic N, Pérol M, Mazières J, Otto J, Souquet PJ, et al. Crizotinib in c-MET- or ROS1-positive NSCLC: results of the AcSé phase II trial. *Ann Oncol*. 1 déc 2019;30(12):1985-91.
59. Granier C, Soumelis V, Mandavit M, Gibault L, Belazzoug R, de Guillebon E, et al. Les « immune checkpoints », comment ça marche. *Annales de Pathologie*. 1 févr 2017;37(1):18-28.
60. Sharpe AH, Pauken KE. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nat Rev Immunol*. mars 2018;18(3):153-67.
61. Lamberti G, Sisi M, Andriani E, Palladini A, Giunchi F, Lollini PL, et al. The Mechanisms of PD-L1 Regulation in Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC): Which Are the Involved Players? *Cancers (Basel)*. 26 oct 2020;12(11):3129.
62. Borghaei H, Gettinger S, Vokes EE, Chow LQM, Burgio MA, de Castro Carpeno J, et al. Five-Year Outcomes From the Randomized, Phase III Trials CheckMate 017 and 057: Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 1 mars 2021;39(7):723-33.
63. Garon EB, Hellmann MD, Rizvi NA, Carcereny E, Leigh NB, Ahn MJ, et al. Five-Year Overall Survival for Patients With Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer Treated With Pembrolizumab: Results From the Phase I KEYNOTE-001 Study. *J Clin Oncol*. 1 oct 2019;37(28):2518-27.
64. Castro G de, Kudaba I, Wu YL, Lopes G, Kowalski DM, Turna HZ, et al. 363 KEYNOTE-042 5-year survival update: pembrolizumab versus chemotherapy in patients with previously untreated, PD-L1–positive, locally advanced or metastatic non–small-cell lung cancer. *J Immunother Cancer* [Internet]. 1 nov 2021 [cité 6 août 2022];9(Suppl 2). Disponible sur: https://jitc.bmj.com/content/9/Suppl_2/A390
65. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, Pawel J von, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*. 21 janv 2017;389(10066):255-65.
66. Ferrara R, Caramella C, Besse B, Champiat S. Pseudoprogression in Non–Small Cell Lung Cancer upon Immunotherapy: Few Drops in the Ocean? *Journal of Thoracic Oncology*. 1 mars 2019;14(3):328-31.
67. Park HJ, Kim KW, Won SE, Yoon S, Chae YK, Tirumani SH, et al. Definition, Incidence, and Challenges for Assessment of Hyperprogressive Disease During Cancer Treatment With Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Network Open*. 24 mars 2021;4(3):e211136.

68. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet*. avr 2016;387(10027):1540-50.
69. 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*. 31 mai 2018;378(22):2078-92.
70. Yu Y, Zeng D, Ou Q, Liu S, Li A, Chen Y, et al. Association of Survival and Immune-Related Biomarkers With Immunotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis and Individual Patient-Level Analysis. *JAMA Netw Open*. 3 juill 2019;2(7):e196879.
71. Nakamura S, Hayashi K, Imaoka Y, Kitamura Y, Akazawa Y, Tabata K, et al. Intratumoral heterogeneity of programmed cell death ligand-1 expression is common in lung cancer. *PLoS One*. 2017;12(10):e0186192.
72. Bassanelli M, Sioletic S, Martini M, Giacinti S, Viterbo A, Staddon A, et al. Heterogeneity of PD-L1 Expression and Relationship with Biology of NSCLC. *Anticancer Res*. juill 2018;38(7):3789-96.
73. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *The Lancet*. avr 2016;387(10030):1837-46.
74. 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*. 1 mars 2019;37(7):537-46.
75. Mazieres J. Atezolizumab Versus Docetaxel in Pretreated Patients With NSCLC: Final Results From the Randomized Phase 2 POPLAR and Phase 3 OAK Clinical Trials. 2021;11.
76. Cristescu R, Aurora-Garg D, Albright A, Xu L, Liu XQ, Loboda A, et al. Tumor mutational burden predicts the efficacy of pembrolizumab monotherapy: a pan-tumor retrospective analysis of participants with advanced solid tumors. *J Immunother Cancer*. janv 2022;10(1):e003091.
77. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non–small cell lung cancer. *Science*. 3 avr 2015;348(6230):124-8.
78. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, Kryukov GV, Cibulskis K, Sivachenko A, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer genes. *Nature*. 11 juill 2013;499(7457):214-8.
79. Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *New England Journal of Medicine*. 31 mai 2018;378(22):2093-104.
80. Hellmann MD, Paz-Ares L, Bernabe Caro R, Zurawski B, Kim SW, Carcereny Costa E, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine*. 21 nov 2019;381(21):2020-31.
81. Kowanetz M, Zou W, Shames D, Cummings C, Rizvi N, Spira A, et al. OA20.01 Tumor Mutation Burden (TMB) is Associated with Improved Efficacy of Atezolizumab in 1L and 2L+ NSCLC Patients. *Journal of Thoracic Oncology*. 1 janv 2017;12(1):S321-2.
82. Fridman WH, Zitvogel L, Sautès–Fridman C, Kroemer G. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol*. déc 2017;14(12):717-34.
83. Geng Y, Shao Y, He W, Hu W, Xu Y, Chen J, et al. Prognostic Role of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Lung Cancer: a Meta-Analysis. *Cell Physiol Biochem*. 2015;37(4):1560-71.
84. Gataa I, Mezquita L, Rossoni C, Auclin E, Kossai M, Aboubakar F, et al. Tumour-infiltrating lymphocyte density is associated with favourable outcome in patients with advanced non–small cell lung cancer treated with immunotherapy. *European Journal of Cancer*. 1 mars 2021;145:221-9.

85. Uryvaev A, Passhak M, Hershkovits D, Sabo E, Bar-Sela G. The role of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) as a predictive biomarker of response to anti-PD1 therapy in patients with metastatic non-small cell lung cancer or metastatic melanoma. *Med Oncol*. 31 janv 2018;35(3):25.
86. Rodas ML de, Nagineni V, Ravi A, Datar IJ, Mino-Kenudson M, Corredor G, et al. Role of tumor infiltrating lymphocytes and spatial immune heterogeneity in sensitivity to PD-1 axis blockers in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. 1 juin 2022;10(6):e004440.
87. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Non-squamous Non-small Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 oct 2015;373(17):1627-39.
88. Lee CK, Man J, Lord S, Links M, GebSKI V, Mok T, et al. Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR- Mutated Non-Small Cell Lung Cancer—A Meta-Analysis. *Journal of Thoracic Oncology*. févr 2017;12(2):403-7.
89. Dong ZY, Zhang JT, Liu SY, Su J, Zhang C, Xie Z, et al. EGFR mutation correlates with uninfamed phenotype and weak immunogenicity, causing impaired response to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Oncol Immunology*. 2 nov 2017;6(11):e1356145.
90. Lisberg A, Cummings A, Goldman JW, Bornazyan K, Reese N, Wang T, et al. A Phase II Study of Pembrolizumab in EGFR-Mutant, PD-L1+, Tyrosine Kinase Inhibitor Naïve Patients With Advanced NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*. août 2018;13(8):1138-45.
91. Hayashi H, Sugawara S, Fukuda Y, Fujimoto D, Miura S, Ota K, et al. A Randomized Phase II Study Comparing Nivolumab with Carboplatin-Pemetrexed for EGFR-Mutated NSCLC with Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors (WJOG8515L). *Clin Cancer Res*. 1 mars 2022;28(5):893-902.
92. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, Mhanna L, Cortot AB, Mezquita L, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol*. août 2019;30(8):1321-8.
93. Negrao MV, Skoulidis F, Montesion M, Schulze K, Bara I, Shen V, et al. Oncogene-specific differences in tumor mutational burden, PD-L1 expression, and outcomes from immunotherapy in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer*. août 2021;9(8):e002891.
94. Garassino MC, Gelibter AJ, Grossi F, Chiari R, Soto Parra H, Cascinu S, et al. Italian Nivolumab Expanded Access Program in Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer Patients: Results in Never-Smokers and EGFR-Mutant Patients. *J Thorac Oncol*. août 2018;13(8):1146-55.
95. Morita R, Okishio K, Shimizu J, Saito H, Sakai H, Kim YH, et al. Real-world effectiveness and safety of nivolumab in patients with non-small cell lung cancer: A multicenter retrospective observational study in Japan. *Lung Cancer*. févr 2020;140:8-18.
96. Bylicki O, Guisier F, Monnet I, Doubre H, Gervais R, Janicot H, et al. Efficacy and safety of programmed cell-death-protein-1 and its ligand inhibitors in pretreated patients with epidermal growth-factor receptor-mutated or anaplastic lymphoma kinase-translocated lung adenocarcinoma. *Medicine (Baltimore)*. 17 janv 2020;99(3):e18726.
97. Yamada T, Hirai S, Katayama Y, Yoshimura A, Shiotsu S, Watanabe S, et al. Retrospective efficacy analysis of immune checkpoint inhibitors in patients with EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Cancer Med*. avr 2019;8(4):1521-9.
98. Lau SCM, Fares AF, Le LW, Mackay KM, Soberano S, Chan SW, et al. Subtypes of EGFR- and HER2-Mutant Metastatic NSCLC Influence Response to Immune Checkpoint Inhibitors. *Clin Lung Cancer*. juill 2021;22(4):253-9.
99. Zhang M, Li G, Wang Y, Wang Y, Zhao S, Haihong P, et al. PD-L1 expression in lung cancer and its correlation with driver mutations: a meta-analysis. *Sci Rep*. 31 août 2017;7:10255.
100. Garassino MC, Cho BC, Kim JH, Mazières J, Vansteenkiste J, Lena H, et al. Durvalumab as third-line or later treatment for advanced non-small-cell lung cancer (ATLANTIC): an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. avr 2018;19(4):521-36.
101. Gettinger S, Horn L, Jackman D, Spigel D, Antonia S, Hellmann M, et al. Five-Year Follow-Up of Nivolumab in Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Results From the CA209-003 Study. *JCO*. 10 juin 2018;36(17):1675-84.

102. Gainor JF, Shaw AT, Sequist LV, Fu X, Azzoli CG, Piotrowska Z, et al. EGFR Mutations and ALK Rearrangements Are Associated with Low Response Rates to PD-1 Pathway Blockade in Non-Small Cell Lung Cancer: A Retrospective Analysis. *Clinical Cancer Research*. 15 sept 2016;22(18):4585-93.
103. Offin M, Guo R, Wu SL, Sabari J, Land JD, Ni A, et al. Immunophenotype and Response to Immunotherapy of RET-Rearranged Lung Cancers. *JCO Precis Oncol*. 2019;3.
104. Chang GC, Yang TY, Chen KC, Hsu KH, Huang YH, Su KY, et al. ALK variants, PD-L1 expression, and their association with outcomes in ALK-positive NSCLC patients. *Sci Rep*. 3 déc 2020;10(1):21063.
105. Dudnik E, Bshara E, Grubstein A, Fridel L, Shochat T, Roisman LC, et al. Rare targetable drivers (RTDs) in non-small cell lung cancer (NSCLC): Outcomes with immune check-point inhibitors (ICPi). *Lung Cancer*. oct 2018;124:117-24.
106. Lee J, Ku BM, Shim JH, La Choi Y, Sun JM, Lee SH, et al. Characteristics and outcomes of RET-rearranged Korean non-small cell lung cancer patients in real-world practice. *Jpn J Clin Oncol*. 5 mai 2020;50(5):594-601.
107. Guisier F, Dubos-Arvis C, Viñas F, Doubre H, Ricordel C, Ropert S, et al. Efficacy and Safety of Anti-PD-1 Immunotherapy in Patients With Advanced NSCLC With BRAF, HER2, or MET Mutations or RET Translocation: GFPC 01-2018. *Journal of Thoracic Oncology*. 1 avr 2020;15(4):628-36.
108. Chen K, Pan G, Cheng G, Zhang F, Xu Y, Huang Z, et al. Immune microenvironment features and efficacy of PD-1/PD-L1 blockade in non-small cell lung cancer patients with EGFR or HER2 exon 20 insertions. *Thorac Cancer*. janv 2021;12(2):218-26.
109. Saalfeld FC, Wenzel C, Christopoulos P, Merkelbach-Bruse S, Reissig TM, Laßmann S, et al. Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors Alone or in Combination With Chemotherapy in NSCLC Harboring ERBB2 Mutations. *J Thorac Oncol*. nov 2021;16(11):1952-8.
110. Dudnik E, Peled N, Nechushtan H, Wollner M, Onn A, Agbarya A, et al. BRAF Mutant Lung Cancer: Programmed Death Ligand 1 Expression, Tumor Mutational Burden, Microsatellite Instability Status, and Response to Immune Check-Point Inhibitors. *J Thorac Oncol*. août 2018;13(8):1128-37.
111. Mu Y, Yang K, Hao X, Wang Y, Wang L, Liu Y, et al. Clinical Characteristics and Treatment Outcomes of 65 Patients With BRAF-Mutated Non-small Cell Lung Cancer. *Frontiers in Oncology [Internet]*. 2020 [cité 18 sept 2022];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.00603>
112. Lelliott EJ, McArthur GA, Oliaro J, Sheppard KE. Immunomodulatory Effects of BRAF, MEK, and CDK4/6 Inhibitors: Implications for Combining Targeted Therapy and Immune Checkpoint Blockade for the Treatment of Melanoma. *Frontiers in Immunology [Internet]*. 2021 [cité 25 sept 2022];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.661737>
113. Haugh AM, Johnson DB. Management of V600E and V600K BRAF-Mutant Melanoma. *Curr Treat Options Oncol*. 18 nov 2019;20(11):81.
114. Proietti I, Skroza N, Michelini S, Mambrin A, Balduzzi V, Bernardini N, et al. BRAF Inhibitors: Molecular Targeting and Immunomodulatory Actions. *Cancers*. juill 2020;12(7):1823.
115. Sabari JK, Leonardi GC, Shu CA, Umeton R, Montecalvo J, Ni A, et al. PD-L1 expression, tumor mutational burden, and response to immunotherapy in patients with MET exon 14 altered lung cancers. *Ann Oncol*. oct 2018;29(10):2085-91.
116. Kron A, Scheffler M, Heydt C, Ruge L, Schaeppers C, Eisert AK, et al. Genetic Heterogeneity of MET-Aberrant NSCLC and Its Impact on the Outcome of Immunotherapy. *Journal of Thoracic Oncology*. 1 avr 2021;16(4):572-82.
117. Nygaard AD, Garm Spindler KL, Pallisgaard N, Andersen RF, Jakobsen A. The prognostic value of KRAS mutated plasma DNA in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 1 mars 2013;79(3):312-7.

118. MI H, H C, W I, J A, Cm L, L H. Correlation between KRAS mutation status and response to chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer☆. Lung cancer (Amsterdam, Netherlands) [Internet]. févr 2016 [cité 16 juin 2022];92. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26775593/>
119. Herbst RS, Lopes G, Kowalski DM, Kasahara K, Wu YL, Castro GD, et al. LBA4 Association of KRAS mutational status with response to pembrolizumab monotherapy given as first-line therapy for PD-L1-positive advanced non-squamous NSCLC in Keynote-042. *Annals of Oncology*. 1 déc 2019;30:xi63-4.
120. Landre T, Justeau G, Assié JB, Chouahnia K, Davoine C, Taleb C, et al. Anti-PD-(L)1 for KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancers: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Cancer Immunol Immunother*. mars 2022;71(3):719-26.
121. Liu C, Zheng S, Jin R, Wang X, Wang F, Zang R, et al. The superior efficacy of anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in KRAS-mutant non-small cell lung cancer that correlates with an inflammatory phenotype and increased immunogenicity. *Cancer Letters*. 1 févr 2020;470:95-105.
122. Skoulidis F, Byers LA, Diao L, Papadimitrakopoulou VA, Tong P, Izzo J, et al. Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS - mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov*. août 2015;5(8):860-77.
123. Ricciuti B, Arbour KC, Lin JJ, Vajdi A, Vokes N, Hong L, et al. Diminished Efficacy of Programmed Death-(Ligand)1 Inhibition in STK11- and KEAP1-Mutant Lung Adenocarcinoma Is Affected by KRAS Mutation Status. *J Thorac Oncol*. mars 2022;17(3):399-410.
124. Federico AD, Giglio AD, Parisi C, Gelsomino F. STK11/LKB1 and KEAP1 mutations in non-small cell lung cancer: Prognostic rather than predictive? *European Journal of Cancer*. 1 nov 2021;157:108-13.
125. Gu M, Xu T, Chang P. KRAS/LKB1 and KRAS/TP53 co-mutations create divergent immune signatures in lung adenocarcinomas. *Ther Adv Med Oncol*. 2021;13:17588359211006950.
126. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, Hellmann MD, Awad MM, Gainor JF, et al. STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov*. juill 2018;8(7):822-35.
127. Mogi A, Kuwano H. TP53 Mutations in Nonsmall Cell Lung Cancer. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:583929.
128. Steels E, Paesmans M, Berghmans T, Branle F, Lemaitre F, Mascaux C, et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *European Respiratory Journal*. 1 oct 2001;18(4):705-19.
129. Qin K, Hou H, Liang Y, Zhang X. Prognostic value of TP53 concurrent mutations for EGFR- TKIs and ALK-TKIs based targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer*. 16 avr 2020;20(1):328.
130. Assoun S, Theou-Anton N, Nguenang M, Cazes A, Danel C, Abbar B, et al. Association of TP53 mutations with response and longer survival under immune checkpoint inhibitors in advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 1 juin 2019;132:65-71.
131. Dong ZY, Zhong WZ, Zhang XC, Su J, Xie Z, Liu SY, et al. Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research*. 14 juin 2017;23(12):3012-24.
132. Gadgeel S, Rodríguez-Abreu D, Speranza G, Esteban E, Felip E, Dómine M, et al. Updated Analysis From KEYNOTE-189: Pembrolizumab or Placebo Plus Pemetrexed and Platinum for Previously Untreated Metastatic Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 10 mai 2020;38(14):1505-17.
133. KEYTRUDA (pembrolizumab) [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 18 sept 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/pprd_2982864/fr/keytruda-pembrolizumab
134. TECENTRIQ (atézolizumab) [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 18 sept 2022]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/pprd_2982779/fr/tecentriq-atezolizumab

135. Hanoteau A, Henin C, Moser M. L'immunothérapie au service de la chimiothérapie, de nouvelles avancées. *Med Sci (Paris)*. 1 avr 2016;32(4):353-61.
136. Bracci L, Schiavoni G, Sistigu A, Belardelli F. Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer. *Cell Death Differ*. janv 2014;21(1):15-25.
137. Szikriszt B, Póti Á, Németh E, Kanu N, Swanton C, Szüts D. A comparative analysis of the mutagenicity of platinum-containing chemotherapeutic agents reveals direct and indirect mutagenic mechanisms. *Mutagenesis*. 27 janv 2021;36(1):75-86.
138. West H, McCleod M, Hussein M, Morabito A, Rittmeyer A, Conter HJ, et al. Atezolizumab in combination with carboplatin plus nab-paclitaxel chemotherapy compared with chemotherapy alone as first-line treatment for metastatic non-squamous non-small-cell lung cancer (IMpower130): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. juill 2019;20(7):924-37.
139. Reck M, Mok TSK, Nishio M, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, et al. Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in non-small-cell lung cancer (IMpower150): key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. mai 2019;7(5):387-401.
140. White MN, Piper-Vallillo AJ, Gardner RM, Cunanan K, Neal JW, Das M, et al. Chemotherapy Plus Immunotherapy Versus Chemotherapy Plus Bevacizumab Versus Chemotherapy Alone in EGFR-Mutant NSCLC After Progression on Osimertinib. *Clin Lung Cancer*. mai 2022;23(3):e210-21.
141. Yang G, Yang Y, Liu R, Li W, Xu H, Hao X, et al. First-line immunotherapy or angiogenesis inhibitor plus chemotherapy for HER2-altered NSCLC: a retrospective real-world POLISH study. *Ther Adv Med Oncol*. 2 mars 2022;14:17588359221082340.
142. West HJ, McClelland M, Cappuzzo F, Reck M, Mok TS, Jotte RM, et al. Clinical efficacy of atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in KRAS-mutated non-small cell lung cancer with STK11, KEAP1, or TP53 mutations: subgroup results from the phase III IMpower150 trial. *J Immunother Cancer*. févr 2022;10(2):e003027.
143. 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*. mai 2021;71(3):209-49.
144. Camidge DR, Dziadziuszko R, Peters S, Mok T, Noe J, Nowicka M, et al. Updated Efficacy and Safety Data and Impact of the EML4-ALK Fusion Variant on the Efficacy of Alectinib in Untreated ALK-Positive Advanced Non-Small Cell Lung Cancer in the Global Phase III ALEX Study. *Journal of Thoracic Oncology*. juill 2019;14(7):1233-43.
145. Nagano T, Tachihara M, Nishimura Y. Mechanism of Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitors and a Potential Treatment Strategy. *Cells*. 15 nov 2018;7(11):212.
146. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, Friboulet L, Leshchiner I, Katayama R, et al. Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer. *Cancer Discov*. oct 2016;6(10):1118-33.
147. Fehrenbacher L, von Pawel J, Park K, Rittmeyer A, Gandara DR, Ponce Aix S, et al. Updated Efficacy Analysis Including Secondary Population Results for OAK: A Randomized Phase III Study of Atezolizumab versus Docetaxel in Patients with Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. août 2018;13(8):1156-70.
148. García-González J, Ruiz-Bañobre J, Afonso-Afonso FJ, Amenedo-Gancedo M, Areses-Manrique M del C, Campos-Balea B, et al. PD-(L)1 Inhibitors in Combination with Chemotherapy as First-Line Treatment for Non-Small-Cell Lung Cancer: A Pairwise Meta-Analysis. *J Clin Med*. 3 juill 2020;9(7):2093.
149. Fujimoto D, Miura S, Yoshimura K, Wakuda K, Oya Y, Haratani K, et al. A Real-World Study on the Effectiveness and Safety of Pembrolizumab Plus Chemotherapy for Nonsquamous NSCLC. *JTO Clinical and Research Reports*. 1 févr 2022;3(2):100265.

150. Shen CI, Chao HS, Shiao TH, Chiang CL, Huang HC, Luo YH, et al. Comparison of the outcome between immunotherapy alone or in combination with chemotherapy in EGFR-mutant non-small cell lung cancer. *Sci Rep.* 9 août 2021;11(1):16122.
151. Yu X, Ji X, Su C. HER2-Altered Non-Small Cell Lung Cancer: Biology, Clinicopathologic Features, and Emerging Therapies. *Frontiers in Oncology* [Internet]. 2022 [cité 25 août 2022];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2022.860313>
152. Niu X, Sun Y, Planchard D, Chiu L, Bai J, Ai X, et al. Durable Response to the Combination of Atezolizumab With Platinum-Based Chemotherapy in an Untreated Non-Smoking Lung Adenocarcinoma Patient With BRAF V600E Mutation: A Case Report. *Front Oncol.* 10 juin 2021;11:634920.
153. Seegobin K, Majeed U, Wiest N, Manochakian R, Lou Y, Zhao Y. Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer With Actionable Mutations Other Than EGFR. *Front Oncol.* 2021;11:750657.
154. Saigi M, Albuquerque-Bejar JJ, Mc Leer-Florin A, Pereira C, Pros E, Romero OA, et al. *MET*-Oncogenic and *JAK2*-Inactivating Alterations Are Independent Factors That Affect Regulation of PD-L1 Expression in Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 1 sept 2018;24(18):4579-87.
155. Titmarsh HF, O'Connor R, Dhaliwal K, Akram AR. The Emerging Role of the c-MET-HGF Axis in Non-small Cell Lung Cancer Tumor Immunology and Immunotherapy. *Front Oncol.* 6 févr 2020;10:54.
156. Morimoto K, Yamada T, Yokoi T, Kijima T, Goto Y, Nakao A, et al. Clinical impact of pembrolizumab combined with chemotherapy in elderly patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* nov 2021;161:26-33.
157. Gadgeel S, Rodriguez-Abreu D, Felip E, Esteban E, Speranza G, Reck M, et al. LBA5 - KRAS mutational status and efficacy in KEYNOTE-189: Pembrolizumab (pembro) plus chemotherapy (chemo) vs placebo plus chemo as first-line therapy for metastatic non-squamous NSCLC. *Annals of Oncology.* 1 déc 2019;30:xi64-5.
158. Kim JH, Kim HS, Kim BJ. Prognostic value of KRAS mutation in advanced non-small-cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and review. *Oncotarget.* 18 juill 2017;8(29):48248-52.
159. Pyo JS, Kang G, Cho WJ, Choi SB. Clinicopathological significance and concordance analysis of c-MET immunohistochemistry in non-small cell lung cancers: A meta-analysis. *Pathol Res Pract.* août 2016;212(8):710-6.
160. Schoenfeld AJ, Arbour KC, Rizvi H, Iqbal AN, Gadgeel SM, Girshman J, et al. Severe immune-related adverse events are common with sequential PD-(L)1 blockade and osimertinib. *Annals of Oncology.* 1 mai 2019;30(5):839-44.
161. Hu H, Xu ZY, Zhu Q, Liu X, Jiang SC, Zheng JH. Brain Metastases Status and Immunotherapy Efficacy in Advanced Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2021 [cité 16 sept 2022];12. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.669398>
162. Sehgal K, Gill RR, Widick P, Bindal P, McDonald DC, Shea M, et al. Association of Performance Status With Survival in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated With Pembrolizumab Monotherapy. *JAMA Network Open.* 11 févr 2021;4(2):e2037120.
163. Gadgeel S, Dziubek K, Nagasaka M, Braun T, Hassan K, Cheng H, et al. OA09.03 Pembrolizumab in Combination With Platinum-Based Chemotherapy in Recurrent EGFR/ALK-Positive Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Journal of Thoracic Oncology.* oct 2021;16(10):S863.
164. Negrao MV, Skoulidis F, Montesion M, Schulze K, Bara I, Shen V, et al. Oncogene-specific differences in tumor mutational burden, PD-L1 expression, and outcomes from immunotherapy in non-small cell lung cancer. *J Immunother Cancer.* 10 août 2021;9(8):e002891.
165. Tian P, Zeng H, Ji L, Ding Z, Ren L, Gao W, et al. Lung adenocarcinoma with ERBB2 exon 20 insertions: Comutations and immunogenomic features related to chemoimmunotherapy. *Lung Cancer.* oct 2021;160:50-8.

166. Xu F, Yang G, Xu H, Yang L, Qiu W, Wang Y. Treatment outcome and clinical characteristics of HER2 mutated advanced non-small cell lung cancer patients in China. *Thorac Cancer*. mars 2020;11(3):679-85.
167. Socinski MA, Nishio M, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, et al. IMpower150 Final Overall Survival Analyses for Atezolizumab Plus Bevacizumab and Chemotherapy in First-Line Metastatic Nonsquamous NSCLC. *J Thorac Oncol*. nov 2021;16(11):1909-24.
168. Hack SP, Zhu AX, Wang Y. Augmenting Anticancer Immunity Through Combined Targeting of Angiogenic and PD-1/PD-L1 Pathways: Challenges and Opportunities. *Front Immunol*. 5 nov 2020;11:598877.
169. Hamarsheh S, Groß O, Brummer T, Zeiser R. Immune modulatory effects of oncogenic KRAS in cancer. *Nat Commun*. 28 oct 2020;11(1):5439.
170. Gonugunta AS, von Itzstein MS, Gerber DE. Pseudoprogression in advanced non-small cell lung cancer treated with combination chemoimmunotherapy: a case report. *Journal of Medical Case Reports*. 25 juill 2022;16(1):289.
171. Nogami N, Barlesi F, Socinski MA, Reck M, Thomas CA, Cappuzzo F, et al. IMpower150 Final Exploratory Analyses for Atezolizumab Plus Bevacizumab and Chemotherapy in Key NSCLC Patient Subgroups With EGFR Mutations or Metastases in the Liver or Brain. *J Thorac Oncol*. févr 2022;17(2):309-23.
172. Yu J, Green MD, Li S, Sun Y, Journey SN, Choi JE, et al. Liver metastasis restrains immunotherapy efficacy via macrophage-mediated T cell elimination. *Nat Med*. janv 2021;27(1):152-64.
173. Thai AA, Solomon BJ, Sequist LV, Gainor JF, Heist RS. Lung cancer. *The Lancet*. 7 août 2021;398(10299):535-54.
174. 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*. oct 2020;21(10):1353-65.
175. Wang F, Zhao Q, Wang YN, Jin Y, He MM, Liu ZX, et al. Evaluation of POLE and POLD1 Mutations as Biomarkers for Immunotherapy Outcomes Across Multiple Cancer Types. *JAMA Oncol*. oct 2019;5(10):1504-6.
176. Mlecnik B, Bifulco C, Bindea G, Marliot F, Lugli A, Lee JJ, et al. Multicenter International Society for Immunotherapy of Cancer Study of the Consensus Immunoscore for the Prediction of Survival and Response to Chemotherapy in Stage III Colon Cancer. *JCO*. nov 2020;38(31):3638-51.
177. Zeng Z, Yang F, Wang Y, Zhao H, Wei F, Zhang P, et al. Significantly different immunoscores in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma and a proposal for a new immune staging system. *Oncoimmunology*. 7 oct 2020;9(1):1828538.

AUTEURE : Nom : MARCHAL

Prénom : Marine

Date de soutenance : 14 octobre 2022

Titre de la thèse : Impact des altérations oncogéniques sur l'efficacité de la combinaison chimiothérapie – immunothérapie dans les cancers bronchiques non à petites cellules non-épidermoïdes : étude d'une cohorte rétrospective multicentrique

Thèse - Médecine - Lille 2022

Cadre de classement : *Pneumologie, Oncologie*

DES + FST/option : *DES de pneumologie, FST de Cancérologie*

Mots-clés : CBNPC, altérations oncogéniques, thérapie combinée, chimiothérapie, immunothérapie, pembrolizumab, biomarqueurs de réponse, étude de vie réelle

Résumé :

Contexte : La combinaison chimiothérapie – immunothérapie (CIT) est le traitement standard des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) avancés. Cependant, l'impact des altérations moléculaires sur l'efficacité de l'association CIT a été peu étudié. L'objectif de cette étude était de décrire l'activité clinique de l'association CIT en fonction des différentes altérations oncogéniques.

Méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective multicentrique dans laquelle ont été inclus les patients qui présentaient un CBNPC non-épidermoïde avec des résultats d'analyse d'ADN tumoral par séquençage de nouvelle génération disponibles et qui ont traités par CIT entre septembre 2018 et octobre 2021. Le critère de jugement principal était la survie sans progression (SSP) et les critères secondaires étaient la survie globale (SG) et le taux de réponse objectif.

Résultats : 195 patients ont été inclus. 173 (88%) patients étaient fumeurs ou anciens fumeurs et 154 (79%) étaient naïfs de traitement. 80 patients (41%) étaient porteurs d'une mutation KRAS, 16 (8,2%) d'une mutation EGFR ou d'un réarrangement ALK, ROS1 ou RET, 11 (5,6%) d'une mutation BRAF, 6 (3,1%) d'une mutation de l'exon 14 de MET ou d'une amplification de MET et 5 (2,6%) d'une mutation de l'HER2. 77 patients (39,5%) ne présentaient aucune de ces altérations oncogéniques. Dans la population globale, la SSP médiane était de 6,41 mois (IC 95% 5,26-7,33). La SSP médiane pour chaque sous-groupe mutationnel était de 7,1 mois (5,42-8,93) pour KRAS, 5,47 mois (2,53-15,25) pour EGFR/ALK/ROS1/RET, 12,9 mois (2,56-NA) pour BRAF, 1,54 mois (0,62-NA) pour MET, 3,91 mois (2,55-NA) pour HER2 et de 5,59 mois (4,67-7,8) pour les patients sans altération oncogénique. La SSP ne différait pas entre les patients KRAS, EGFR/ALK/ROS1/RET, BRAF et sans altération oncogénique ($p = 0,54$).

La SSP et la SG étaient positivement corrélées à la surexpression de MET et à l'expression de PDL1 tandis que les mutations STK11 étaient associées à un pronostic péjoratif. Les données de survie n'étaient en revanche pas statistiquement différentes en fonction du statut TP53.

Conclusion : Dans notre étude, l'efficacité de la combinaison CIT était inégale en fonction du profil moléculaire mais ne semblait pas affectée par les altérations EGFR, ALK, ROS1 et RET. Ces résultats, qui nécessitent d'être confirmés, pourraient remettre en question l'exclusion systématique de ces patients des essais cliniques évaluant les combinaisons CIT.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Arnaud SCHERPEREEL

Assesseurs : Madame le Docteur Sarah HUMEZ

Monsieur le Docteur Vincent LEROY

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Alexis CORTOT

