



## La recherche de mutations dans l'ADN tumoral circulant aide à prédire la réponse à l'immunothérapie dans le cancer du poumon

Nicolas Guibert<sup>1-3</sup>, Anne Pradines<sup>2,4</sup>, Gilles Favre<sup>2,4</sup>, Julien Mazières<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>Unité d'oncologie thoracique, Hôpital Larrey, CHU Toulouse, Chemin de Pouvoirville, 31059 Toulouse Cedex, France.

<sup>2</sup>Inserm, Centre de recherche en cancérologie de Toulouse, CRCT UMR-1037, 31000 Toulouse, France.

<sup>3</sup>Université Paul Sabatier, 31000 Toulouse, France.

<sup>4</sup>Laboratoire de Biologie médicale oncologique, Institut Claudius Regaud, 31059 Toulouse, France.

[guibert.n@chu-toulouse.fr](mailto:guibert.n@chu-toulouse.fr)

Le cancer du poumon « non à petites cellules » (CBNPC) reste la première cause de décès par cancer, même si sa prise en charge a été révolutionnée ces 10 dernières années par l'avènement des thérapies ciblées en présence d'une addiction oncogénique<sup>1</sup>, et plus récemment, par les immunothérapies ciblant les points de contrôle de l'immunité. Le blocage de l'interaction inhibitrice entre PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) exprimé à la surface de la cellule cancéreuse et PD-1 (*programmed cell death 1*) exprimé à la surface du lymphocyte, en particulier, restaure l'immunité anticancéreuse et permet des réponses prolongées. Cependant, seule une minorité de patients tire un bénéfice durable de ces agents utilisés en monothérapie, qui exposent à un risque d'effet indésirable (auto-immunité). Les biomarqueurs pour identifier ces répondeurs à long terme sont limités : 1) l'analyse de l'expression de PD-L1 dans les tumeurs par immunohistochimie est largement utilisée, mais cette expression varie dans le temps et selon la localisation étudiée dans la tumeur [1] ; 2) la charge mutationnelle tumorale évaluée par le séquençage de l'exome complet permet de prédire une meilleure survie sans progression avec une immunothérapie qu'avec une chimiothérapie, mais ce caractère prédictif n'a pas été confirmé

en termes de survie globale [2]. Une des limites de cette dernière approche, au-delà de son coût, de sa faisabilité limitée sur tissu [2] et de la lourdeur du traitement bioinformatique des données, réside dans le fait que toutes les mutations ne génèrent pas de néo-épitopes immunogènes et n'ont donc pas la même valeur vis-à-vis de la réponse à l'immunothérapie [3].

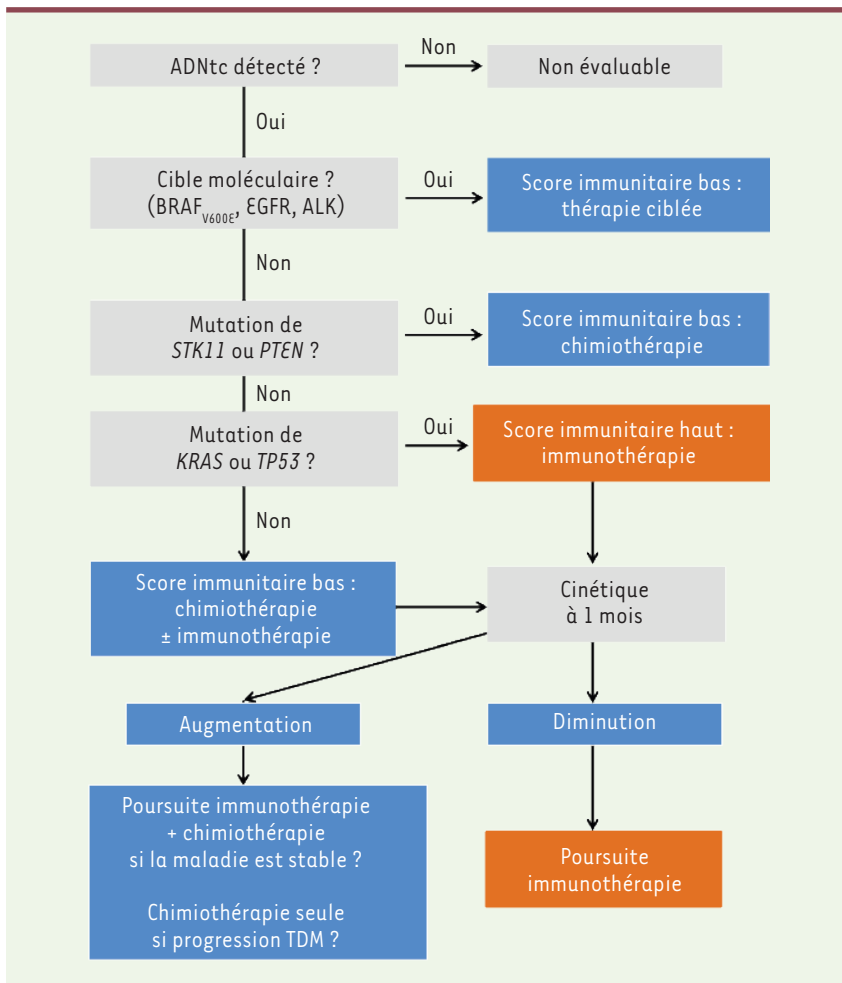
En parallèle, des déterminants génomiques de réponse ou de résistance à l'immunothérapie ont été identifiés. Il est en particulier démontré que les mutations de *KRAS* (*V-Ki-ras2*, *Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*), présentes dans 25 % des adénocarcinomes, confèrent à la tumeur une plus grande sensibilité à l'immunothérapie, surtout lorsqu'une mutation de *TP53* (*tumor protein p53*) lui est associée (35 à 57 % de réponse objective à l'immunothérapie contre moins de 20 % dans la population CBNPC globale [4]). À l'inverse, les mutations inactivatrices de *STK11* (*serine/threonine kinase 11*), présentes dans 15 % des adénocarcinomes, en particulier lorsqu'elles sont accompagnées de mutations de *KRAS* ou de *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog*), sont associées à de moindres réactions inflammatoires au sein du microenvironnement tumoral et à une résistance à l'immunothérapie (moins de 7,5 % de réponse objective à l'immunothérapie pour les tumeurs avec mutations de *KRAS* et *STK11*) [4-6]. Enfin, les réponses à l'immunothérapie des tumeurs avec addiction

oncogénique en présence d'une mutation oncogénique d'*EGFR* (*epithelial growth factor receptor*) ou d'un réarrangement des gènes *ALK* (*anaplastic lymphoma kinase*) ou *ROS1* (*ROS proto-oncogene 1*), sont rares [7].

Nous avons fait l'hypothèse qu'un séquençage ciblé de l'ADN des cellules tumorales, limité à ces anomalies, pourrait prédire la réponse à l'immunothérapie. À défaut d'une quantité résiduelle de tissu disponible avec des biopsies de petite taille, nous avons analysé l'ADN tumoral circulant (ADNtc), correspondant à l'ADN des cellules tumorales présent dans la circulation sanguine. Cette analyse peu invasive, qui peut être répétée au cours de l'évolution du cancer sous traitement, permet de prendre en compte l'hétérogénéité du profil moléculaire de la tumeur dans le temps et dans l'espace. Nous avons également étudié la corrélation entre les variations précoces (1 mois) du taux d'ADNtc et la réponse au traitement.

Notre étude [8] a porté sur une cohorte de 97 patients atteints d'un CBNPC de stade avancé (stade IIIB/IV) et débutant une immunothérapie en seconde ligne après un échec de la chimiothérapie (IMMUNOPREDICT, NCT02827344). La recherche des mutations de l'ADN plasmatique a été réalisée à partir d'un échantillon de sang par une technique de séquençage à haut débit (Inivata, *InVivision First® - Lung technology*, Morrisville,

<sup>1</sup> Dépendance d'un cancer à l'altération d'un gène (ou de quelques gènes) pour maintenir un phénotype cancéreux et assurer la survie des cellules tumorales.



**Figure 1. Proposition d'utilisation de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) pour guider l'immunothérapie.** Si un *driver* oncogénique est détecté, une thérapie ciblée, ou une chimiothérapie si les possibilités de thérapie ciblée ont été épuisées, doit être préférée. La présence d'une mutation de *PTEN* ou de *STK11* doit faire reconsidérer la pertinence d'une immunothérapie, alors qu'une mutation par transversion de *KRAS* ou de *TP53* est prédictive de bons résultats. Un « score immunitaire haut », défini par l'absence de *driver* oncogénique et de mutations de *PTEN* ou de *STK11*, mais la présence de mutations par transversion de *KRAS* ou de *TP53*, prédit un résultat favorable de l'immunothérapie. Une diminution de la concentration de l'ADNtc à un mois est fortement prédictive d'une réponse durable (74 % de patients en réponse à 6 mois) et doit motiver la poursuite de l'immunothérapie, alors qu'une augmentation initiale indique une probable progression tumorale (84 % de patients avec progression de la tumeur dans les 6 mois) et incite à modifier le traitement (notamment si l'imagerie par tomographie par émission de positons (TDM) indique également une progression de la maladie) ou peut-être à y associer une chimiothérapie si l'imagerie indique une stabilité de la maladie.

NC, États-Unis), sur un panel de 36 gènes d'intérêt. L'ADNtc a été détecté dans 78 % de ces prélèvements (67/86). Aucun des patients porteurs d'une addiction oncogénique (hors mutations de *KRAS*) n'a répondu à l'immunothérapie (5 patients avec mutation de l'*EGFR*,

1 patient avec réarrangement de *ALK*). La présence d'une mutation de *PTEN* ou de *STK11* était associée à une moindre réponse (rapport des risques instantanés ou *hazard ratio* : 8,9 pour *PTEN*, et 4,7 pour *STK11*). À l'inverse, les mutations par transversion de *KRAS* ou *TP53*

étaient associées à de meilleures survies sans progression (*hazard ratio* : 0,36 pour *TP53* et 0,46 pour *KRAS*).

Nous proposons un arbre décisionnel tenant compte du profil moléculaire de l'ADNtc (Figure 1). Le « score immunitaire haut » (SIH) est défini par l'absence d'une altération des gènes *drivers*<sup>2</sup> (*EGFR*, *ROS1*, *ALK* et *BRAF*<sub>V600E</sub>) et de mutations de *STK11* ou *PTEN*, et la présence de mutations par transversion de *KRAS* ou *TP53*. Le SIH était associé à une médiane de survie sans progression de 14 mois et un taux de réponse à 6 mois de 76 %. Le score immunitaire est considéré comme « bas » (SIB) en présence d'une altération d'un gène *driver* (hors *KRAS*), de *PTEN* ou de *STK11*, et en l'absence de mutations par transversion de *KRAS* ou *TP53*. Le SIB était associé à une médiane de survie sans progression de 2 mois, et un taux de réponse à 6 mois de 33 % (Figure 1).

Les patients dont la concentration plasmatique de l'ADNtc augmente dans le premier mois ont une moins bonne réponse à l'immunothérapie (médiane de survie sans progression de 2 mois, taux de réponse à 6 mois de 16 %) que ceux dont la concentration diminue (médiane de survie sans progression de 10 mois). La cinétique est d'autant plus discriminante que la variation est grande : seulement 11 % et 6 % de taux de réponse à 6 mois après une augmentation de 30 ou 50 %, respectivement, de la concentration de l'ADNtc.

L'identification, dans le plasma, de manière plus ciblée qu'avec la charge mutationnelle tumorale, des mutations associées à une résistance (mutations *driver*, *STK11*, *PTEN*) [5-7] ou, au contraire, à une plus grande sensibilité à l'immunothérapie (mutations par transversion de *KRAS* ou de *TP53*) [4,9] permet donc de sélectionner les patients répondeurs à l'immunothérapie, avec des médianes de survie sans progression

<sup>2</sup> Gène dont l'altération (mutation, réarrangement chromosomique entraînant une fusion avec un autre gène, etc.) entraîne une addiction oncogénique.



de 2 mois pour les patients avec SIB, et de 14 mois pour les patients avec SIH. De la même manière, la cinétique précoce de l'ADN tumoral circulant est un assez bon indicateur de la réponse à 6 mois, même s'il est imparfait (e.g., immunothérapie efficace à 6 mois chez 11 % des patients dont la concentration de l'ADNtc a augmenté de plus de 30 % à un mois) et ne doit probablement être envisagé qu'en complément de l'imagerie, qui est parfois d'interprétation délicate (e.g., réponse lente à l'immunothérapie, ou vraie progression de la tumeur considérée à tort comme une pseudo-progression).

Une limite de cette étude est son caractère rétrospectif et l'absence de groupe témoin (patients traités par chimiothérapie par exemple), qui empêche de différencier de manière formelle un effet prédictif sur la réponse à l'immunothérapie d'un effet pronostique. L'arbre décisionnel proposé dans la *Figure 1*, présenté à titre indicatif, ne serait

utilisable qu'en cas de validation des résultats dans une étude prospective.

En conclusion, le séquençage à haut débit d'un nombre limité de gènes dans l'ADNtc, répété au cours du temps, pourrait constituer un outil complémentaire pour prédire et suivre la réponse à l'immunothérapie dans le cancer du poumon. ♦

### Finding mutations of interest in circulating tumor DNA helps predict immunotherapy response in lung cancer

#### LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

#### RÉFÉRENCES

1. Ilie M, Long-Mira E, Bence C, et al. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances: a potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies. *Ann Oncol* 2016 ; 27 : 147-53.
2. Hellmann MD, Paz-Ares L, Bernabe Caro R, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2019 ; 381 : 2020-31.
3. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature* 2017 ; 541 : 321-30.
4. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawald DM, et al. *STK11/LKB1* mutations and PD-1 inhibitor resistance in *KRAS*-mutant lung adenocarcinoma. *Cancer Discov* 2018 ; 8 : 822-35.
5. Peng W, Chen JQ, Liu C, et al. Loss of PTEN promotes resistance to T cell-mediated immunotherapy. *Cancer Discov* 2016 ; 6 : 202-16.
6. Koyama S, Akbay EA, Li YY, et al. *STK11/LKB1* deficiency promotes neutrophil recruitment and proinflammatory cytokine production to suppress T-cell activity in the lung tumor microenvironment. *Cancer Res* 2016 ; 76 : 999-1008.
7. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the Immunotarget registry. *Ann Oncol* 2019 ; 30 : 1321-8.
8. Guibert N, Jones G, Beeler JF, et al. Targeted sequencing of plasma cell-free DNA to predict response to PD1 inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth* 2019 ; 137 : 1-6.
9. Rizvi H, Sanchez-Vega F, La K, et al. Molecular determinants of response to anti-programmed cell death (PD)-1 and anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) blockade in patients with non-small-cell lung cancer profiled with targeted next-generation sequencing. *J Clin Oncol* 2018 ; 36 : 633-41.

**P**ossédées du Malin au Moyen-Âge, les sorcières hystériques sont vouées au bûcher. Enfermées au XVII<sup>e</sup> siècle, maltraitées, elles rejoignent la Cour des Miracles de l'Hospice de la Vieillesse-Femmes à la Salpêtrière... Jusqu'à ce que le Dr Jean-Martin Charcot (1825-1893) mène le combat qui transforme l'ancien hospice en hôpital : l'École de la Salpêtrière de

Paris est née, qui devient lieu de recherche, d'enseignement et de soins, de renommée internationale.

Jean Martin Charcot n'a pas bonne presse, et pourtant... Hystérie et folie traversent les siècles, prenant les formes de « l'air du temps ».

De l'utérus migrateur d'Hippocrate aux recherches neurologiques de Charcot. Du désir inconscient avec Freud à la jouissance du parlêtre chez Lacan... C'est à cette traversée historique et conceptuelle que nous convie cet ouvrage.



ISBN : 978-2-7598-1268-4

240 pages

20 €

**BON DE COMMANDE**

À retourner à EDP Sciences, 17 avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex, France  
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir

Folies à la Salpêtrière : 20 € + 3 € de port = 23 € TTC

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Date d'expiration : | | | | | N° de contrôle au dos de la carte : | | | | | Signature :