

Faculté de Médecine

Année 2018

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Discipline : Pneumologie

Présentée et soutenue publiquement

le 19 octobre 2018

Par Matthieu DUSSELIER

Né le 1er mai 1990 à Rennes

Etude des facteurs clinico-biologiques prédictifs de réponse au nivolumab chez les patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules avancé

Thèse dirigée par M. le Professeur Alain VERGNENEGRE

Juges :

M. le Professeur Boris MELLONI, PU-PH, CHU de Limoges

M. le Professeur François VINCENT, PU-PH, CHU de limoges

Mme le Docteur Élise DELUCHE, PH, CHU de Limoges

Membres invités :

M. le Professeur Jean FEUILLARD, PU-PH, CHU de Limoges

Mme le Docteur Julia BALLOUHEY, PH, CHU de Limoges



Faculté de Médecine

Année 2018

Thèse N°

Thèse pour le diplôme d'État de docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

Le 19 octobre 2018

Par Matthieu DUSSELIER

Né le 1er mai 1990 à Rennes

Etude des facteurs clinico-biologiques prédictifs de réponse au nivolumab chez les patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules avancé

Thèse dirigée par M. le Professeur Alain VERGNENEGRE

Juges :

M. le Professeur Boris MELLONI, PU-PH, CHU de Limoges

M. le Professeur François VINCENT, PU-PH, CHU de limoges

Mme le Docteur Élise DELUCHE, PH, CHU de Limoges

Membres invités :

M. le Professeur Jean FEUILLARD, PU-PH, CHU de Limoges

Mme le Docteur Julia BALLOUHEY, PH, CHU de Limoges



Professeurs des Universités - praticiens hospitaliers

Le 1^{er} septembre 2017

ABOYANS Victor	CARDIOLOGIE
ACHARD Jean-Michel	PHYSIOLOGIE
ALAIN Sophie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
ARCHAMBEAUD Françoise	MEDECINE INTERNE (Surnombre jusqu'au 31-08-2020)
AUBARD Yves	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
AUBRY Karine	O.R.L.
BEDANE Christophe	DERMATO-VENEREOLOGIE
BERTIN Philippe	THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre	O.R.L. (Surnombre jusqu'au 31-08-2018)
BORDESSOULE Dominique	HEMATOLOGIE (Surnombre jusqu'au 31-08-2018)
CAIRE François	NEUROCHIRURGIE
CHARISSOUX Jean-Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et TRAUMATOLOGIQUE
CLAVERE Pierre	RADIOTHERAPIE
CLEMENT Jean-Pierre	PSYCHIATRIE d'ADULTES
COGNE Michel	IMMUNOLOGIE
CORNU Elisabeth	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
COURATIER Philippe	NEUROLOGIE
DANTOINE Thierry	GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT
DARDE Marie-Laure	PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE
DAVIET Jean-Christophe	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
DESCAZEAUD Aurélien	UROLOGIE

DES GUETZ Gaëtan	CANCEROLOGIE
DESSPORT Jean-Claude	NUTRITION
DRUET-CABANAC Michel	MEDECINE et SANTE au TRAVAIL
DUMAS Jean-Philippe	UROLOGIE (Surnombre jusqu'au 31-08-2018)
DURAND-FONTANIER Sylvaine	ANATOMIE (CHIRURGIE DIGESTIVE)
ESSIG Marie	NEPHROLOGIE
FAUCHAIS Anne-Laure	MEDECINE INTERNE
FAUCHER Jean-François	MALADIES INFECTIEUSES
FAVREAU Frédéric	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
FEUILLARD Jean	HEMATOLOGIE
FOURCADE Laurent	CHIRURGIE INFANTILE
GAUTHIER Tristan	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
GUIGONIS Vincent	PEDIATRIE
JACCARD Arnaud	HEMATOLOGIE
JAUBERTEAU-MARCHAN M. Odile	IMMUNOLOGIE
LABROUSSE François	ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
LACROIX Philippe	MEDECINE VASCULAIRE
LAROCHE Marie-Laure	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
LIENHARDT-ROUSSIE Anne	PEDIATRIE
LOUSTAUD-RATTI Véronique	HEPATOLOGIE
LY Kim	MEDECINE INTERNE
MABIT Christian	ANATOMIE
MAGY Laurent	NEUROLOGIE
MARIN Benoît	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
MARQUET Pierre	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

MATHONNET Muriel	CHIRURGIE DIGESTIVE
MELLONI Boris	PNEUMOLOGIE
MOHTY Dania	CARDIOLOGIE
MONTEIL Jacques	BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE
MOREAU Jean-Jacques	NEUROCHIRURGIE
MOUNAYER Charbel	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
NATHAN-DENIZOT Nathalie	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
NUBUKPO Philippe	ADDICTOLOGIE
PARAF François	MEDECINE LEGALE et DROIT de la SANTE
PLOY Marie-Cécile	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
PREUX Pierre-Marie	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
ROBERT Pierre-Yves	OPHTALMOLOGIE
SALLE Jean-Yves	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
SAUTEREAU Denis	GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE
STURTZ Franck	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
TEISSIER-CLEMENT Marie-Pierre	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE et MALADIES METABOLIQUES
TREVES Richard	RHUMATOLOGIE
TUBIANA-MATHIEU Nicole	CANCEROLOGIE
VALLEIX Denis	ANATOMIE
VERGNENEGRE Alain	EPIDEMIOLOGIE, ECONOMIE de la SANTE et PREVENTION
VERGNE-SALLE Pascale	THERAPEUTIQUE
VIGNON Philippe	REANIMATION
VINCENT François	PHYSIOLOGIE
WEINBRECK Pierre	MALADIES INFECTIEUSES
YARDIN Catherine	CYTOLOGIE et HISTOLOGIE

PROFESSEUR ASSOCIE DES UNIVERSITES A MI-TEMPS DES DISCIPLINES MEDICALES

BRIE Joël CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AJZENBERG Daniel PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

BARRAUD Olivier BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

BOURTHOUMIEU Sylvie CYTOLOGIE et HISTOLOGIE

BOUTEILLE Bernard PARASITOLOGIE et MYCOLOGIE

CHABLE Hélène BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE (Retraite au 31-07-2018)

DURAND Karine BIOLOGIE CELLULAIRE

ESCLAIRE Françoise BIOLOGIE CELLULAIRE

HANTZ Sébastien BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE

JACQUES Jérémie GASTRO-ENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE

JESUS Pierre NUTRITION

LE GUYADER Alexandre CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE

LIA Anne-Sophie BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE

MURAT Jean-Benjamin PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE

QUELVEN-BERTIN Isabelle BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE

RIZZO David HEMATOLOGIE

TCHALLA Achille GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT

TERRO Faraj BIOLOGIE CELLULAIRE

WOILLARD Jean-Baptiste PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE

P.R.A.G.

GAUTIER Sylvie ANGLAIS

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

BUCHON Daniel	(Maintenu en fonction jusqu'au 31.08.2019)
DUMOITIER Nathalie	(Responsable du département de Médecine Générale)

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS DE MEDECINE GENERALE

MENARD Dominique	(du 1 ^{er} septembre 2016 au 12 janvier 2018)
PREVOST Martine	(du 1 ^{er} septembre 2015 au 31 août 2018)

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS DE MEDECINE GENERALE

HOUDARD Gaëtan	(du 1 ^{er} septembre 2016 au 31 août 2019)
LAUCHET Nadège	(du 1 ^{er} septembre 2017 au 31 août 2020)
PAUTOUT-GUILLAUME Marie-Paule	(du 1 ^{er} septembre 2015 au 31 août 2018)

PROFESSEURS EMERITES

ADENIS Jean-Paul	du 01.09.2017 au 31.08.2019
ALDIGIER Jean-Claude	du 01.09.2016 au 31.08.2018
BONNAUD François	du 01.09.2017 au 31.08.2019
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel	du 01.09.2017 au 31.08.2019
DENIS François	du 01.09.2017 au 31.08.2019
GAINANT Alain	du 01.09.2017 au 31.08.2019
MERLE Louis	du 01.09.2017 au 31.08.2019
MOULIES Dominique	du 01.09.2015 au 31.08.2018
VALLAT Jean-Michel	du 01.09.2014 au 31.08.2018
VIROT Patrice	du 01.09.2016 au 31.08.2018

Assistants Hospitaliers Universitaires – Chefs de Clinique

Le 1^{er} novembre 2017

ASSISTANTS HOSPITALIERS UNIVERSITAIRES

BASTIEN Frédéric	BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE
BAUDRIER Fabien	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
CHARISSOUX Aurélie	ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
CHARPENTIER Mathieu	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
DUCHESNE Mathilde	ANATOMIE et CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES
FAYE Piere-Antoine	BIOCHIMIE et BIOLOGIE MOLECULAIRE
GAUTHIER François	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
KONG Mélody	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
LARRADET Matthieu	BIOPHYSIQUE et MEDECINE NUCLEAIRE (Démission à compter du 1 ^{er} janvier 2018)
LEGRAS Claire	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION (Surnombre du 1 ^{er} novembre 2017 au 20 février 2018 inclus)
MARQUET Valentine	HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE et CYTOGENETIQUE

CHEFS DE CLINIQUE - ASSISTANTS DES HOPITAUX

AZAÏS Julie	MEDECINE INTERNE A
BAUDONNET Romain	OPHTALMOLOGIE
BIDAUT-GARNIER Mélanie	OPHTALMOLOGIE (A compter du 11 mai 2016)
BLOSSIER Jean-David	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE
BOSETTI Anaïs	GERIATRIE et BIOLOGIE du VIEILLISSEMENT
BOUKEFFA Nejma	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
BOUSQUET Pauline	PEDIATRIE (A compter du 09 janvier 2017)

CHAMPIGNY Marie-Alexandrine	PEDIATRIE
CHRISTOU Niki	CHIRURGIE DIGESTIVE
COLOMBIÉ Stéphanie	MEDECINE INTERNE A (A compter du 02 mai 2017)
COMPAGNAT Maxence	MEDECINE PHYSIQUE et de READAPTATION
CROSSE Julien	PEDIATRIE
DANTHU Clément	NEPHROLOGIE
DARNIS Natacha	PEDOPSYCHIATRIE
DELUCHE Elise	CANCEROLOGIE
DE POUILLY-LACHATRE Anaïs	RHUMATOLOGIE (A compter du 02 mai 2017)
DIDOT Valérian	CARDIOLOGIE
DUSSAULT-JARLAN Lucile	CARDIOLOGIE
EVARD Bruno	REANIMATION
FAURE Bertrand	PSYCHIATRIE d'ADULTES
FAYEMENDY Charlotte	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
GARDIC Solène	UROLOGIE
GORDIENCO Alen	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE MEDECINE VASCULAIRE
GOUDELIN Marine	REANIMATION
HARDY Jérémy	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
KRETZSCHMAR Tristan	PSYCHIATRE d'ADULTES
LACHATRE Denis	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
LACOSTE Marie	MALADIES INFECTIEUSES
GSCHWIND Marion	MEDECINE INTERNE B
LAFON Thomas	MEDECINE d'URGENCE
LAHMADI Sanae	NEUROLOGIE

LATHIERE Thomas	OPHTALMOLOGIE
LEHMAN Lauriane	GASTROENTEROLOGIE
LEPETIT Hugo	GASTROENTEROLOGIE
MARGUERITTE François	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE
MARTINS Elie	CARDIOLOGIE
PRUD'HOMME Romain	DERMATOLOGIE-VENERELOGIE
RAMIN Lionel	ORL
ROUCHAUD Aymeric	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE (NRI)
ROUSSELLET Olivier	NEUROLOGIE
SALLE Henri	NEUROCHIRURGIE
SANGLIER Florian	RADIOLOGIE et IMAGERIE MEDICALE
TAÏBI Abdelkader	ANATOMIE
USSEGLIO-GROSSO Julie	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE et STOMATOLOGIE
VAYSSE VIC Mathieu	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
VITAL Pauline	MEDECINE INTERNE B
VITALE Gaetano	CHIRURGIE THORACIQUE et CARDIOVASCULAIRE MEDECINE VASCULAIRE

CHEF DE CLINIQUE – MEDECINE GENERALE

DOIN Corinne

RUDELLE Karen

SEVE Léa

PRATICIEN HOSPITALIER UNIVERSITAIRE

BALLOUHEY Quentin
CHIRURGIE INFANTILE
(du 1^{er} mai 2015 au 30 avril 2019)

CROS Jérôme
ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION
(du 1^{er} mai 2014 au 31 octobre 2018)

LERAT Justine

O.R.L. (du 1er mai 2016 au 31 octobre 2020)

MATHIEU Pierre-Alain

CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE et
TRAUMATOLOGIQUE
(du 1er mai 2016 au 31 octobre 2020)

Remerciements

A mon Directeur de thèse :

M. le Professeur Alain VERGNENEGRE

Professeur des Universités, Epidémiologie, Santé Publique

Chef de service de l'Unité d'Oncologie Thoracique et Cutanée du CHU de Limoges

Médecin des Hôpitaux

Je vous remercie de votre soutien sans faille, tout au long de ma formation en oncologie thoracique. Vous m'avez fait l'honneur de m'encadrer au cours de la rédaction de cette thèse. Je vous prie de croire à ma plus vive reconnaissance et en mon plus profond respect.

Au Président du jury :

M. le Professeur Boris MELLONI

Professeur des Universités, Pneumologie

Chef du service de Pathologie respiratoire du CHU le Cluzeau

Médecin des Hôpitaux

Je vous remercie de m'avoir accueilli sur Limoges et du soutien que vous m'avez toujours témoigné au cours de mon internat. Veuillez trouver ici l'assurance de ma reconnaissance.

A mes juges :

M. le Professeur François VINCENT

Professeur des Universités, Physiologie

Chef du service des explorations fonctionnelles respiratoires du CHU de Limoges

Médecin des Hôpitaux

Pour avoir accepté sans hésiter de juger ma thèse. Je vous remercie de m'avoir accepté au sein de votre service des EFR et de m'avoir permis de mener à bien ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect et de ma gratitude.

Mme le Dr Élise DELUCHE

Chef de Clinique- Assistante des Hôpitaux

Service d'Oncologie Médicale, CHU de Limoges

Pour avoir accepté de juger ce travail et m'avoir encadré tout au long de mon parcours en oncologie médicale.

Aux membres invités :

M. le Professeur Jean Feuillard

Chef de service d'immunologie et d'immunogénétique du CHU de Limoges

Pour m'avoir guider sur ce travail et avoir accepté de juger ce travail.

Mme le Dr Julia BALLOUHEY

Médecin des Hôpitaux

Unité d'oncologie thoracique et cutanée, CHU de Limoges

Pour m'avoir formé avec autant de pédagogie et de bienveillance, trouve ici l'assurance de mon amitié et de mon respect le plus sincère.

A mes Chefs, Séniors et Co-internes

A Nellie, mon binôme

A mon maître, le Dr Thomas Egenod, qui a su constamment m'initier à de nouvelles thématiques autour de l'oncologie thoracique, de l'endoscopie interventionnelle et de la pneumologie en général et me pousser toujours vers l'avant. Trouve ici l'assurance de mon plus profond et sincère respect.

Au Dr Aude Saint Paul pour sa patience et sa pédagogie, j'espère croiser ta route de nouveau en métropole ou à la Réunion.

Au Dr Cristina Hotea, avec qui j'ai débuté à Brive pendant mes 2 premiers semestres, je veux t'exprimer ici mes pensées les plus cordiales et espère pouvoir continuer avec toi dans le futur.

Au Dr Marie Thérèse Antonini, Maître de Conférences, qui m'a introduit aux multiples subtilités de la physiologie respiratoire et qui m'a impressionnée par sa passion intacte dans cette discipline.

Au Dr Florent Favard, qui m'a éclairé sur un nombre important de dossiers lors de mon stage aux EFR et qui m'a permis de mener à bien ce travail.

Au Dr Julia Pestre, qui m'a encadré pendant tout mon semestre en oncologie médicale, et qui continue à me filer des bons tuyaux sur la paternité !

A Sophie Léobon, qui a permis à ces données de s'exprimer de manière statistiquement significative, je profite de ces quelques pages pour te remercier

A mes co-internes pneumologues : Philippe-Olivier, Yannick , Sophie, Benoit.

A la Team Rocket : Antoine et Tiff !

A la dream team briviste : Martoche, Jeannette, Vincent et son épouse Pauline, Ragi, Florian, Raphael, Sarah Martin, Anais brazette, Sylvain le cycliste, et à la sœur Julie P.

Aux équipes de l'UOTC : le Dr ROUX, Madame Hébras, Pauline, Amélie, Charlène, Perrine, Sonia, Elodie, Murielle, Angélique, MF, MC, MP.

Aux équipes des EFR : Nathalie, Delphine (un grand merci pour ses gâteaux au citron), Chouchou, Laetitia, Nadia.

Aux équipes d'oncologie médicale et du CH de Brive : Marion, David, Michèle, Laurène.

A mes proches

A Aurélie

A Louis

A mes parents, sans qui tout ça n'aurait jamais été possible.

A mon frère Anthoine avec qui j'ai eu la joie de partager tant de choses et que j'admire.

A mes grands-parents Jeannot et Jeannette et à ma grand mère Rosette qui ont été des modèles de courage et d'abnégations.

To Russell, Carol and Paul, which I consider as my 2nd family, thanks for everything you have done for me, I can not wait to see you with Aurelie and our baby.

A ma tante Martine et à mon oncle Réal, et à leurs enfants Nicolas, Valérie et Anne-Laure que je revois à chaque fois avec plaisir.

A ma marraine Jocelyne et à mon parrain Gilles.

A Paul Bolzonella, et ses parents Michel et Dominique avec qui j'ai grandi, trouvez ici preuve de ma plus profonde et sincère amitié.

A Géraldine, Gauthier, Matthieu, Xav', Clément, Lucas, Lily et Mathilde : que de temps passé depuis les bancs du lycée mais quel plaisir de vous retrouver à chaque fois !! Votre présence ici vaut mieux que tous les mots pour exprimer ce qui nous réunit.

A Sabrina, on se connaît depuis la primaire, j'espère pouvoir de nouveau passer plus de temps avec Bastien et toi une fois que tu auras de nouveau traversé l'étang !

Aux jumeaux (Etienne et Clément) et à Thomas et Sylvain, merci d'avoir toujours été là.

A Matsou et Carole, c'est toujours le même plaisir de vous retrouver depuis tant d'années !

A mes colloqs de la Chab : à Victor (mmH mythique mon loup) et Lulu, au Py (et à tout ce que tu amènes Bibou) et à Mathou, à Arthur (et son écureuil empaillé) et Marine, à Jérémy(sans toi, je n'aurais jamais connu la Chabroulie !) et Marie
Et à Florian, Hélène, Antoine (si tu fais un ECG, tu auras le droit à une sucette), Lionel (tu as eu le droit à une sucette), Rémy (the gimpy one), Nanard (ce monstre physique).

Droits d'auteurs

Cette création est mise à disposition selon le Contrat :
« **Attribution-Pas d'Utilisation Commerciale-Pas de modification 3.0 France** »
disponible en ligne : <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>



Table des matières

Table des illustrations.....	19
Table des tableaux.....	20
Liste des abréviations.....	21
Introduction.....	23
I. PREMIERE PARTIE : RAPPELS.....	24
I.1. Généralités sur le cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules.....	24
I.1.1. Épidémiologie.....	24
I.1.1.1. En France.....	24
I.1.1.2. Dans le monde.....	25
I.2. Cancers et Immunité.....	25
I.2.1. Immunité innée.....	26
I.2.1.1. Les Polynucléaires neutrophiles.....	26
I.2.1.2. Les macrophages.....	27
I.2.1.3. Les cellules natural-killer.....	27
I.2.2. Immunité acquise.....	28
I.2.2.1. Les Lymphocytes B.....	28
I.2.2.2. Les Lymphocytes T.....	28
I.2.3. Immunoédition des cancers.....	31
I.2.3.1. Phase précoce et équilibre.....	32
I.2.3.2. Mécanismes d'échappement au système immunitaire.....	33
I.2.4. Microenvironnement tumoral.....	33
I.2.4.1. Tumor Associated Neutrophils.....	34
I.2.4.2. Myeloid Derived Suppressor Cells.....	36
I.2.4.3. Tumor Associated Macrophages.....	37
I.2.4.4. Tumor associated Fibroblasts.....	38
I.3. Le traitement par nivolumab dans le cancer du poumon.....	38
I.3.1. Les mécanismes d'action des anti PD-L1.....	38
I.3.1.1. La voie de signalisation PD-1/PD-L1.....	39
I.3.1.2. La modification de la voie PD-1/PD-L1 dans le CBNPC.....	40
I.3.1.3. Le nivolumab.....	40
I.3.2. Indication du nivolumab en 2 ^{ème} ligne de traitement.....	41
I.4. Facteurs clinico-biologique prédictifs de réponses à l'immunothérapie.....	42
I.4.1. Facteurs cliniques de réponse à l'immunothérapie.....	43
I.4.1.1. Statut tabagique.....	43
I.4.1.2. Caractéristiques radiologiques.....	43
I.4.1.3. Localisations métastatiques.....	43
I.4.1.4. Chimiothérapies antérieures.....	43
I.4.1.5. Radiothérapie associée.....	43
I.4.2. Facteurs biologiques de réponse à l'immunothérapie.....	44
I.4.2.1. Lymphocytes Natural Killer.....	44
I.4.2.2. Le taux de Prolactine.....	45
I.4.2.3. Ratio PNN / Lymphocytes.....	45
I.4.2.4. Derived Neutrophil Lymphocyte Ratio.....	46
I.4.2.5. PLR.....	46
I.4.2.6. Advanced Lung Cancer Inflammation Index.....	46

I.4.2.7. Lung Immune Prognostic Index.....	47
I.4.2.8. Prognostic nutritional Index.....	47
I.5. Contexte de l'étude.....	47
I.5.1. Patients hyperprogresseurs et progresseurs précoces.....	47
I.5.2. Patients longs répondeurs.....	47
II. DEUXIEME PARTIE : ETUDE CLINIQUE.....	49
III. TROISIEME PARTIE : DISCUSSION, RESULTATS COMPLEMENTAIRES, LIMITES ET PERSPECTIVES.....	70
III.1. Marqueurs cliniques.....	70
III.1.1. Statut tabagique.....	70
III.1.2. Radiothérapie.....	70
III.1.3. Durée sous 1 ^{ère} ligne de traitement.....	70
III.2. Marqueurs biologiques.....	70
III.2.1. PNN.....	70
III.2.2. PLR.....	70
III.2.3. NLR.....	71
III.3. Limites.....	71
III.3.1. Le choix du nivolumab.....	72
III.3.2. L'impact du type histologique.....	72
III.3.3. L'absence d'analyse du statut PD-L1.....	72
Conclusion.....	74
Références bibliographiques.....	75
Annexes.....	82
Annexe 1. ERORECI.....	83
Annexe 2.....	100
Serment d'Hippocrate.....	101

Table des illustrations

Figure 1 : Évolution de l'incidence du cancer du poumon en France entre 1980 et 2012 (Source : INCa)	24
Figure 2 : Reconnaissance des cellules tumorales par le système immunitaire (15)	25
Figure 3 : Interactions des PNN avec le reste du système immunitaire (11)	27
Figure 4 : Activation et différenciation des lymphocytes T (17).....	29
Figure 5 : Différenciation des sous-populations LT auxiliaires (17).....	31
Figure 6 : Immunoédition des cancers (17).....	32
Figure 7 : Différentes voies de stimulation des cellules de la lignée myéloïde vers une différenciation N1 (anti-tumorale) ou N2 (pro-tumorale) (24)	34
Figure 8 : Cycle de prolifération et de réponse N2 des PNN (13).....	35
Figure 9 : Caractéristiques morphologiques des HDN, LDN et des TAN dans les modèles murins (13)	35
Figure 10 : Modèle représentant le lien entre G-MDSC et PNN (25).....	37
Figure 11 : Micro environnement tumoral (36)	38
Figure 12 : Activation de la voie PD-1/PD-L1 (41)	40
Figure 13 : Mode d'action des anticorps anti-PD-1 et anti PD-L1 (39).....	41
Figure 14 : Survie globale de tous les patients traités (A), en fonction de l'histologie (B), en fonction de la dose reçue (C) et en fonction de l'expression du PD-L1 (D) (77)	48

Table des tableaux

Table 1 : Molécules de co-stimulation des cellules T et leurs ligands (17)	30
--	----

Liste des abréviations

ALC : ANC pour Absolute Neutrophil Count
 ALI : Advanced lung cancer inflammation index
 ANC : Absolute Neutrophil Count
 CBNPC : cancer bronchique non à petites cellules
 CBPC : cancer bronchique à petites cellules
 CCL : Chemokine Ligand
 CD : Cluster de différenciation
 CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
 CXCL : Chemokine ligand
 CXCR : Chemokine Receptor
 CRP : C Réactive Protein
 DAMP : Damage-Associated Molecular Pattern
 dNLR : derived Neutrophil Lymphocyte Ratio
 G-CSF : granulocyte colony-stimulating factor
 G-MDSC : Granulocyte Myeloid Derived Suppressor Cells
 HDN : High density Neutrophils
 HR : Hazard Ratio
 IC₉₅ : Indice de confiance à 95%
 ICAMs : Intercellular Adhesion molecules
 IFN : Interferon
 IL : Interleukine
 INCa : Institut National contre le Cancer
 ITIM : immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif
 ITSM : immunoreceptor tyrosine-based switch motif
 KIRs : Killer-cell immunoglobulin-like receptors
 KARs : Killer Activation Receptors
 LDH : Lactate Deshydrogenase
 LDN : Low density Neutrophils
 LIPI : Lung Immune Pronostic Index
 LB : Lymphocyte B
 LT : lymphocyte T
 M-CSF : Macrophage Colony Stimulating Factor
 MDSC : Myeloid Derived Suppressor Cells
 MDSC-Mo : Myeloid Derived Suppressor Cells - Monocytes
 MIC-A : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, gène codant pour chaîne A
 MIC-B : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe I, gène codant pour chaîne B
 MMP : Matrix Metallo-Proteinase
 MRCs : Myeloid Regulatory Cells
 NET : neutrophils extracellular traps
 NKG2D : Natural Killer Group 2D
 NK : Natural Killer
 NLR : Neutrophil Lymphocyte Ratio
 OR : Odds Ratio
 OS : Survie globale
 PD : Progressive Disease

PD-1 : Programmed cell Death protein 1
PD-L1 : Programmed Death Ligand 1
PFS : Progression Free Survival
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase
PLR : Platelet Lymphocyte Ratio
PNI : Prognostic Nutritional Index
PNN : Polynucléaires Neutrophiles
PSGL-1 : P-Selectin Glycoprotéine Ligand-1
PTHrp : Parathyroïde Hormone related Peptide
RC : Réponse Complète
RECIST : Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
ROS : Reactive Oxygen Species
RP : réponse partielle
SD : Stable Disease
T-reg : lymphocytes T régulateurs
TAF : Tumor Associated Fibroblasts
TAM : Tumor Associated Macrophages
TAN : Tumor Associated Neutrophils
TCR : récepteurs des cellules LT
TGF : Tumor Growth Factor
TMB : Tumor Mutational Burden
TNF : Tumor Necrosis Factor
TNM : Tumor Nodes Metastasis
TRAIL : Tumor-necrosis-factor Related Apoptosis Inducing Ligand
TRAIL-R : Tumor-Necrosis-Factor Related Apoptosis Inducing Ligand - Récepteur
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
ZAP-70 : Zeta-chain-Associated Protein kinase 70

Introduction

L'évolution des thérapies dans le cancer du poumon s'est considérablement accélérée au cours des dix dernières années avec le développement des thérapies ciblées et des immunothérapies. Depuis 2 ans maintenant, le nivolumab (Opdivo[®], Bristol-Myers Squibb, New York, USA) a démontré sa supériorité comparé au docetaxel pour les cancers bronchiques non à petites cellules épidermoïdes (1) et non épidermoïdes (2). Cependant, les taux de réponse varient entre 19% (2) et 20% (1), avec une médiane de survie globale oscillant entre 9,2 (1) et 12,2 mois (2). Le principe de ces traitements est de réactiver la voie PD-1/PD-L1 (Programmed cell Death protein 1/Programmed Death Ligand 1) afin de permettre aux lymphocytes T CD8 de reconnaître à nouveau les cellules tumorales et les détruire. Devant le nombre important de patients non répondeurs et le coût important de ces traitements (3), la problématique des marqueurs prédictifs est rapidement apparue.

L'objectif de ce travail de thèse était donc d'analyser l'évolution de différents marqueurs clinico-biologiques pronostiques et prédictifs, avant puis au cours des 8 premières semaines de traitement par nivolumab, chez des patients atteints de cancers du poumon non à petites cellules progressant après 4 injections de nivolumab ou répondant pendant au moins 1 an. Des analyses complémentaires portant sur la survie ont également été réalisées.

Nous rapporterons donc ici les résultats d'une étude rétrospective portant sur le recueil des données de 59 patients traités aux CHU de Limoges et de Bordeaux par nivolumab. Auparavant, nous commencerons par reprendre les mécanismes immunologiques permettant l'apparition puis le développement des cancers puis nous nous concentrerons sur les données de la littérature concernant les biomarqueurs pronostiques et prédictifs de réponse aux traitements déjà connus.

I. PREMIERE PARTIE : RAPPELS

I.1. Généralités sur le cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules

Les cancers broncho-pulmonaires sont divisés en 2 grandes catégories : les cancers à petites cellules et ceux non à petites cellules. Ces 2 grandes catégories présentent des caractéristiques histologiques et immunologiques très différentes. Leur classification et leur prise en charge sont aussi distinctes. Au cours de ce travail, afin d'obtenir une population plus homogène, nous nous intéresserons uniquement aux cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules.

I.1.1. Épidémiologie

I.1.1.1. En France

L'Institut National contre le Cancer (INCa) estimait en 2017 en France le nombre de nouveaux cas de cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) et à petites cellules (CBPC) à 49 109 (32 260 hommes et 16 849 femmes), avec un âge médian au diagnostic de 66 ans chez l'homme et de 65 ans chez la femme (chiffres de 2015).

Ces chiffres situent les cancers bronchiques au 4^e rang des cancers en termes d'incidence, tous sexes confondus. Ils se placent au 2^e rang des cancers chez l'homme et au 3^e rang chez la femme, avec une incidence toujours plus élevée chez l'homme que chez la femme.

Cette pathologie a conduit au décès 30 991 personnes en 2015 (20 815 hommes et 10 176 femmes) avec un âge médian de 68 ans chez l'homme et de 67 ans chez la femme.

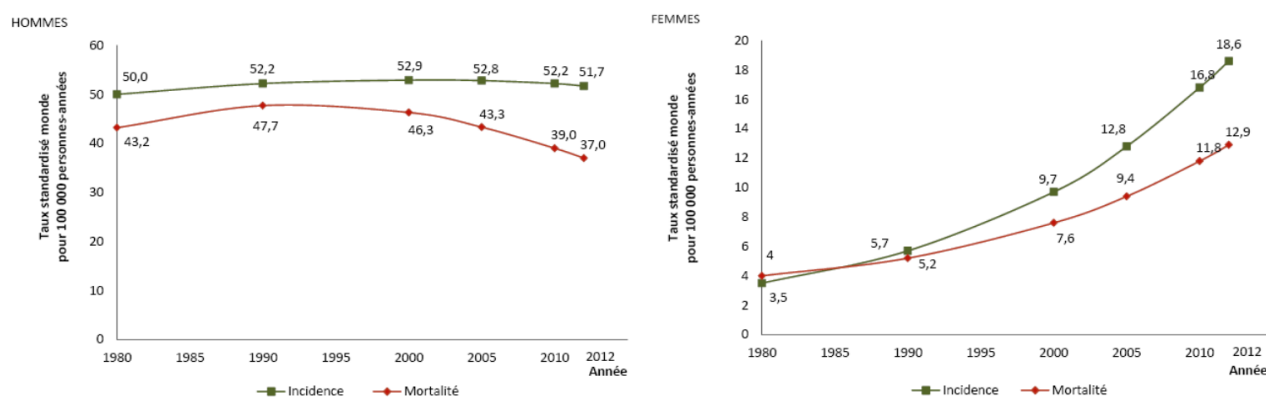


Figure 1 : Évolution de l'incidence du cancer du poumon en France entre 1980 et 2012 (Source : INCa)

Comme le montre ce schéma, chez les hommes, on note depuis les années 1980 une incidence globalement stable avec un pic dans les années 2000 à 52,9 nouveaux cas pour 10 000 personnes-années, pour redescendre à 51,7 personnes pour 10 000 personnes-années en 2012. La mortalité, quant à elle diminue depuis les années 1990 passant de 47,7 pour 10 000 personnes-années à 37 pour 10 000 personnes-années en 2012.

Chez les femmes, l'incidence et la mortalité sont toutes 2 en constante augmentation avec respectivement 3,5 personnes pour 10 000 personnes-années en 1980 contre 18,6

personnes-années en 2012, et 4 personnes pour 10 000 personnes-années en 1980 contre 12,9 personnes pour 10 000 personnes-années en 2012.

I.1.1.2. Dans le monde

En 2012, l'Organisation Mondiale de la Santé 1,8 millions de nouveaux cas diagnostiqués entraînant la mort de 1,6 millions de personnes. Cinquante-huit pourcent des nouveaux patients sont dans des pays en voie de développement, avec des incidences particulièrement élevées en Europe de l'Est (53.5 pour 100 000 personnes-années), et dans l'Est de l'Asie (50.4 pour 100 000 personnes-années). On note une prédominance importante des CBNPC, qui représentent 85 à 90% des cas de cancers pulmonaires.

I.2. Cancers et Immunité

Chaque cancer ne peut se développer qu'en parvenant à mettre en place un mécanisme pour échapper au système immunitaire, inné ou acquis. La partie qui va suivre sera consacrée aux différents types d'immunité et aux processus mis en place par les cellules tumorales pour y échapper.

De fait, l'organisme d'un individu est en perpétuel renouvellement grâce à la mitose cellulaire. De nouvelles cellules sont créées afin de remplacer les anciennes. Cependant, lors de ces cycles, des anomalies peuvent apparaître au cours de la création de ces nouvelles cellules et celles-ci doivent être éliminées par le système immunitaire. On distingue deux formes d'immunité : l'immunité innée et l'immunité acquise.

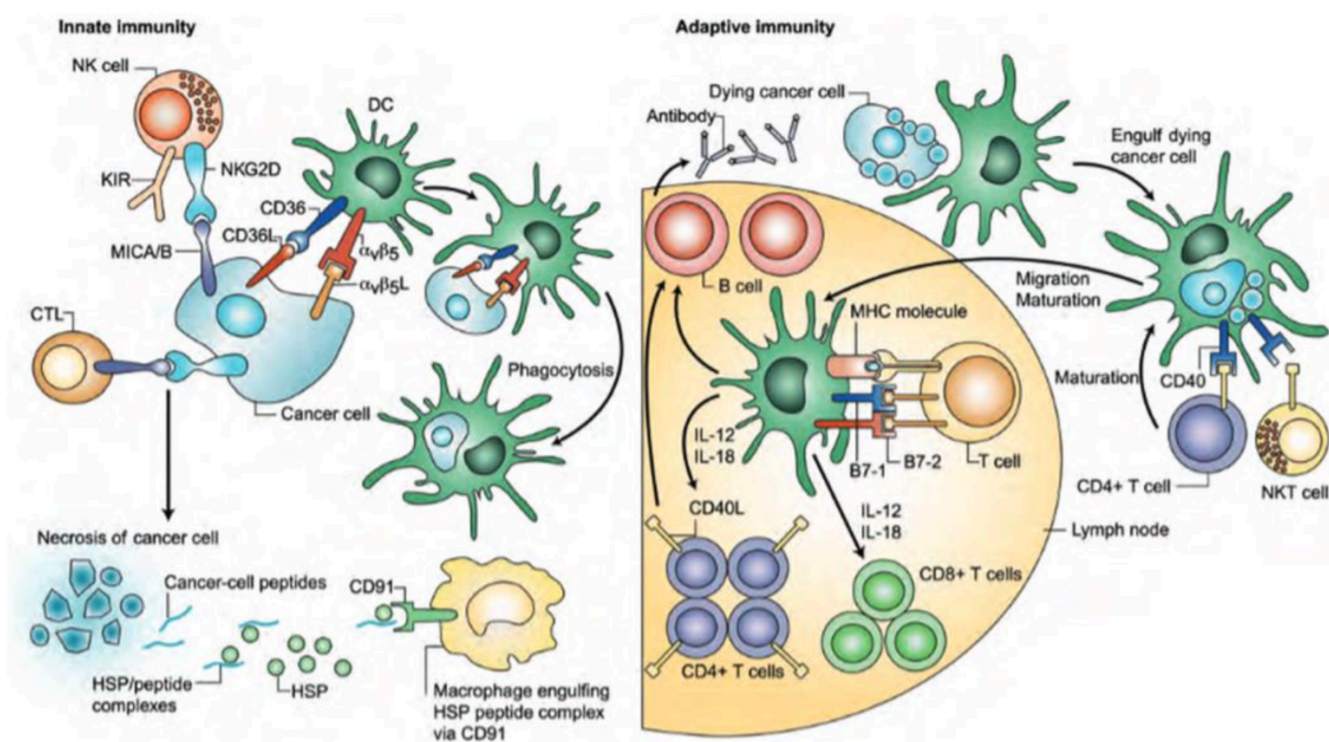


Figure 2 : Reconnaissance des cellules tumorales par le système immunitaire (15)

I.2.1. Immunité innée

L'immunité innée est activée initialement lors du passage d'un pathogène dans l'organisme. Les cellules concernées sont principalement issues des cellules de la lignée myéloïde. On dénombre 4 principaux types de cellules : les granulocytes, les polynucléaires neutrophiles (PNN), les basophiles et les mastocytes.

I.2.1.1. Les Polynucléaires neutrophiles

Les PNN représentent 50 à 70% des leucocytes circulants (11). Les PNN sont produits au sein de la moelle osseuse au cours de la granulopoïèse. Cette granulopoïèse est stimulée par la cytokine GCSF, sécrétée par les cellules endothéliales, les fibroblastes, les monocytes et les macrophages, en réponse aux cytokines pro-inflammatoires (12). C'est après leur différenciation dans la moelle osseuse qu'ils sont libérés dans le sang périphérique pendant quelques heures avant de migrer dans les tissus, où leur durée de vie est de quelques jours. Les PNN se repèrent au cours de leurs quelques heures dans la circulation générale, grâce à des chémokines comme le Tumor Necrosis Factor (TNF- α), l'interleukine (IL)-1 β , et l'IL-17. Une fois arrivés au niveau des tissus inflammés, les PNN se repèrent grâce aux glycoprotéines P-Selectine glycoprotéine ligand-1 (PSGL-1) et à la L-sélectine présent à leurs surfaces, ainsi qu'à l'expression de molécules P-sélectines, E-sélectines et des intégrines (ICAMs) par les cellules endothéliales. L'activation des récepteurs PSGL1 et de la L-Selectine entraînent à l'intérieur du PNN l'activation d'un ensemble de kinases (kinases de la famille Src, Syk, phosphoinositide 3-kinase (PI3K), et p38 mitogen-activated proteine kinase). Cette cascade permet aux PNN de préparer l'activation des intégrines afin que les PNN se fixent aux cellules endothéliales puis rejoignent les tissus. Une fois passée la barrière endothéliale, les PNN se guident en fonction des concentrations de chémoattractants produits par les cellules de l'hôte (majoritairement IL-8) et les pathogènes. Au fur et à mesure que les concentrations d'IL-8 augmentent, la machinerie cellulaire prépare le burst oxydatif jusqu'à ce que les concentrations soit suffisantes pour entraîner la dégranulation.

Pour détecter les PNN dans le sang, ils sont isolés par gradient de densité (technique de Ficoll-Hypaque) au niveau des densités élevées. Ce groupe de PNN est appelé High density Neutrophils (HDN). Des chercheurs ont découvert qu'il existait une population de PNN circulant avec une densité faible, les Low density Neutrophils (LDN) (13).

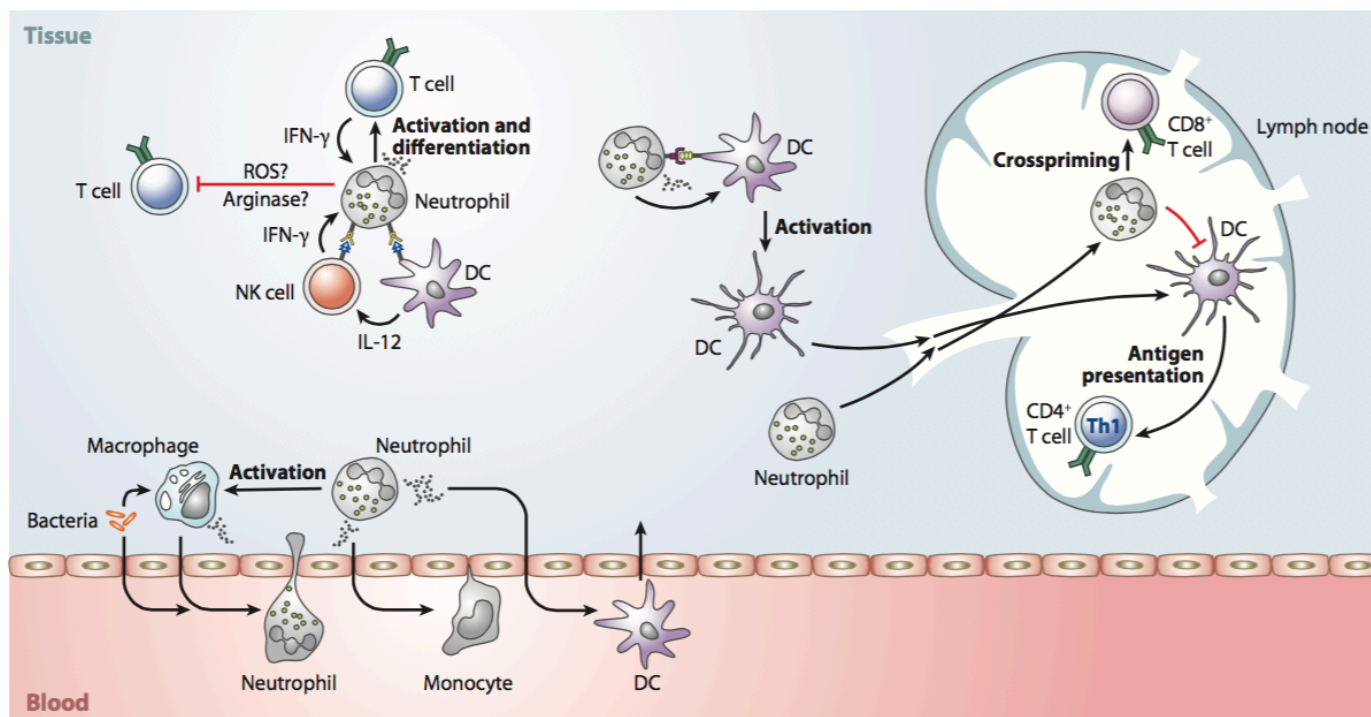


Figure 3 : Interactions des PNN avec le reste du système immunitaire (11)

Ces cellules produisent aussi de nombreuses cytokines, qui vont avoir différents effets sur les autres cellules du système immunitaire (11) :

- l'IL-8 qui permet de majorer l'inflammation et de recruter plus de PNN,
- le CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL20 (MIP-3 α), et CCL19 (MIP-3 β) afin de recruter les monocytes et les macrophages
- le CCL-3 et TNF- α afin de recruter, maturer et activer des cellules dendritiques (CDs) pour à terme stimuler une réponse lymphocytaire de type Th1,
- l'IL-18 en direction des cellules NK afin de les attirer ; un contact direct entre PNN et cellules NK peut permettre l'activation de ces dernières (14)
- l'IL 12, le TGF- β (15), ou la L-arginase (16) en direction des lymphocytes T pour stimuler leur différenciation vers la voie Th1.
- l'IL-10 qui peut, dans certains cas, inhiber la réponse lymphocytaire

Les PNN peuvent aussi présenter certains antigènes aux LT CD8 cytotoxiques et aux LT CD4 via la présence à leur surface de CMH classe II afin de stimuler la réponse acquise.

I.2.1.2. Les macrophages

Les macrophages sont issus de la différenciation des monocytes circulants et ont pour principal rôle la phagocytose des bactéries ou des cellules anormales, comme les cellules tumorales. Ils possèdent à leur surface divers récepteurs pouvant reconnaître les motifs moléculaires associés aux dégâts (*Damage-Associated Molecular Pattern* ou DAMP), qui permet d'activer les macrophages. Leurs activations entraînent également la libération de cytokines et de chémokines permettant le recrutement d'autres leucocytes et ainsi poursuivre et majorer la réponse inflammatoire innée.

I.2.1.3. Les cellules natural-killer

Les cellules natural killer (NK) sont issues des lignées lymphocytaires mais présentent un récepteur invariant d'activation, c'est pourquoi elles sont classées parmi les

effecteurs de la réponse innée. Elles ont pour fonction principale la détection, via leurs récepteurs KIRs et KARs, de l'absence de CMH de type I, présent sur l'ensemble des cellules humaines, à la surface des cellules. Certaines cellules tumorales, afin d'éviter d'activer des plasmocytes, ne présentent aucun CMH de type I à leur surface. L'activation des NK entraîne la libération de substances cytolytiques (perforine, granzyme) entraînant la lyse de la membrane plasmique de la cellule tumorale. Les NK peuvent aussi être activées par des protéines sécrétées lors des processus de stress oxydatif comme MIC-A et MIC-B grâce à leurs récepteurs NKG2D et ainsi avoir une action cytotoxique. Enfin, ces cellules NK recrutent et stimulent la maturation des cellules dendritiques qui feront le lien avec l'immunité adaptative.

Ces lignées de l'immunité innée sont donc les premières au contact des cellules tumorales présentes dans l'organisme en permanence. Elles sont chargées de les repérer, les détruire et de les présenter aux cellules de l'immunité adaptative afin de les sensibiliser en vue de leur activation.

I.2.2. Immunité acquise

L'immunité acquise intervient secondairement dans la réponse immunitaire. Elle est plus lente à se mettre en place mais s'adapte aux agents pathogènes ce qui lui permet d'être plus efficace. Elle est composée des lymphocytes qui constituent 20 à 40% des globules blancs circulant et 99% des cellules de la lymphe. Ils sont divisés en deux principales catégories : les lymphocytes B, les lymphocytes T.

I.2.2.1. Les Lymphocytes B

Les lymphocytes B développent au sein de la moelle osseuse leur immunocompétence et une auto-tolérance, avant de rejoindre les follicules lymphoïdes. Une fois activés, ils se transforment en plasmocytes afin de sécréter une quantité importante d'anticorps dirigés contre un antigène donné et ainsi favoriser la destruction des agents pathogènes par les macrophages. Ils jouent un rôle mineur dans la destruction des cellules tumorales.

I.2.2.2. Les Lymphocytes T

Les Lymphocytes T (LT), qui vont jouer un rôle pivot dans la reconnaissance et la destruction des cellules tumorales, sont divisés en 2 grandes familles : les LT auxiliaires exprimant le CD4, et les LT cytotoxiques exprimant le CD8. Ces deux populations se différencient grâce à de multiples signaux tout au long de leur vie dans le cortex thymique. A l'issue de cette première phase de maturation, les lymphocytes appartiennent à l'une des catégories suivantes : LT CD4, LT CD8, qui sont les 2 vecteurs principaux de la réponse anti-tumorale ainsi que LT $\gamma\delta$ ou d'autres lignées moins fréquentes comme LT reg.

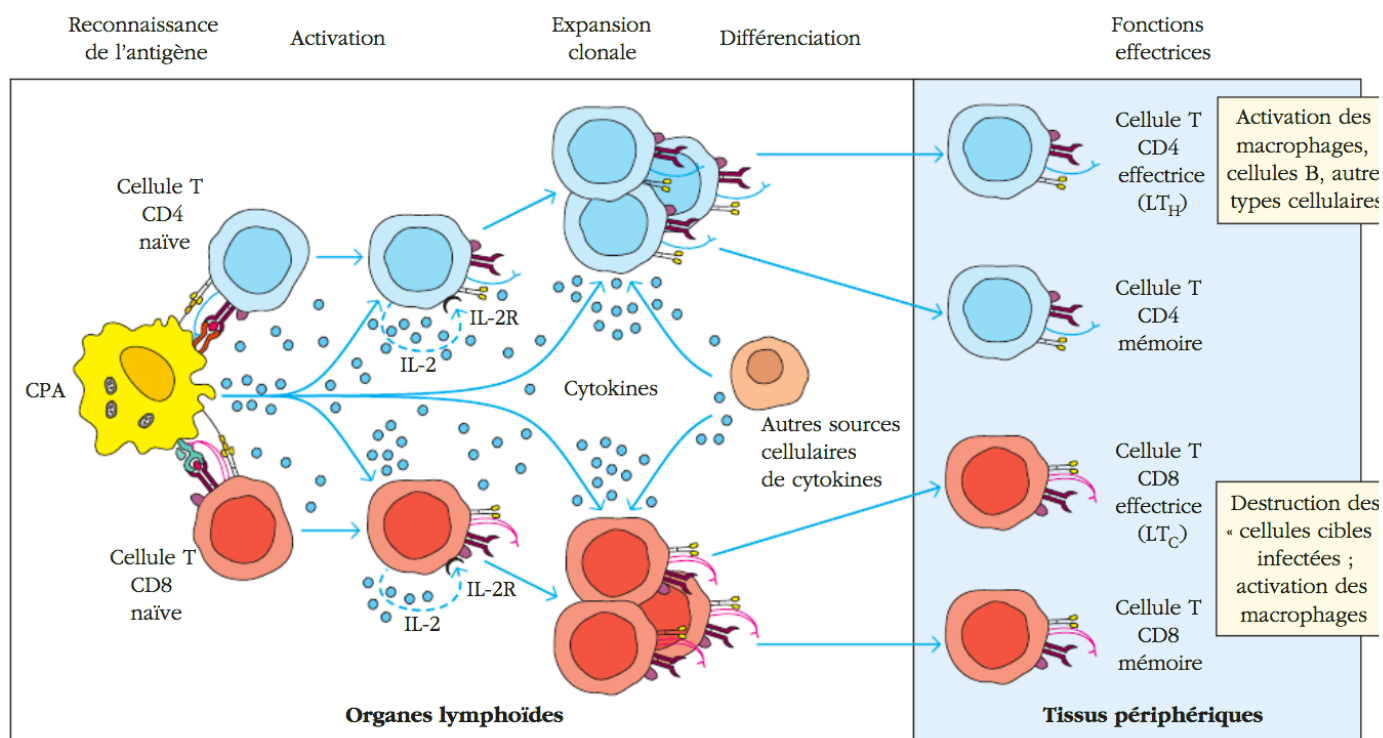


Figure 4 : Activation et différenciation des lymphocytes T (17)

Les LT CD8 sont principalement cytotoxiques et vont notamment permettre la destruction des cellules cancéreuses. Les LT CD4 auxiliaires (ou helpers) ont pour objectif de coordonner la réponse immunitaire et de faire le lien via certaines cytokines entre lymphocytes T et B. Les cellules LT reg permettent de bloquer la réponse immunitaire une fois l'agression contrôlée afin de permettre aux tissus de se reconstituer. Les lymphocytes T $\gamma\delta$ sont présents majoritairement au niveau des interfaces que constituent les épithéliums. Ils sont à la frontière entre immunité innée et acquise, et peuvent grâce à leurs récepteurs TCR reconnaître et détruire les cellules tumorales (18).

Après la maturation au sein du cortex thymique, les lymphocytes gagnent la circulation systémique jusqu'aux différents tissus. Mais pour pouvoir être complètement activés et proliférer, des signaux de co-stimulation sont requis. Ils peuvent entraîner une co-stimulation positive, amplifiant la réponse immunitaire ou négative, diminuant l'activité des lymphocytes. Les principales molécules de co-stimulation sont décrites dans le tableau ci-dessous.

Table 1 : Molécules de co-stimulation des cellules T et leurs ligands (17)

Récepteurs de costimulation sur la cellule T	Ligands de molécule de costimulation	Activité
Costimulation positive		
CD28	CD80 (B7-1) ou CD86 (B7-2) Exprimés par les CPA professionnelles (et épithélium thymique médullaire)	Activation des cellules T naïves
ICOS	ICOS-L Exprimé par les cellules B, quelques CPA et les cellules T	Maintien de l'activité des cellules T différenciées ; interaction caractéristique entre cellules B et T
Costimulation négative		
CTLA-4	CD80 (B7-1) ou CD86 (B7-2) Exprimé par les CPA professionnelles (et épithélium thymique médullaire)	Régulation négative de la réponse immune (maintien de la tolérance T périphérique ; diminution de l'inflammation ; contient la prolifération d'un pool de cellules T après élimination de l'agent infectieux)
PD-1	PD-L1 ou PD-L2 Exprimés par les CPA professionnelles, certaines cellules B et T, et cellules tumorales	Régulation négative de la réponse immune, régulation de la différenciation T _{REG}
BTLA	HVEM Exprimé par certaines CPA, les cellules B et T	Régulation négative de la réponse immune, régulation de la différenciation T _{REG} (?)

Une fois activés, les lymphocytes T CD8 cytotoxiques peuvent se fixer aux cellules tumorales via leurs systèmes perforine/granzyme, Fas/FasL ou TRAIL-R/TRAIL (17). Les lymphocytes T auxiliaires vont pouvoir avoir différents rôles en fonction des cytokines polarisantes présentes dans le microenvironnement, comme le décrit le schéma ci dessous.

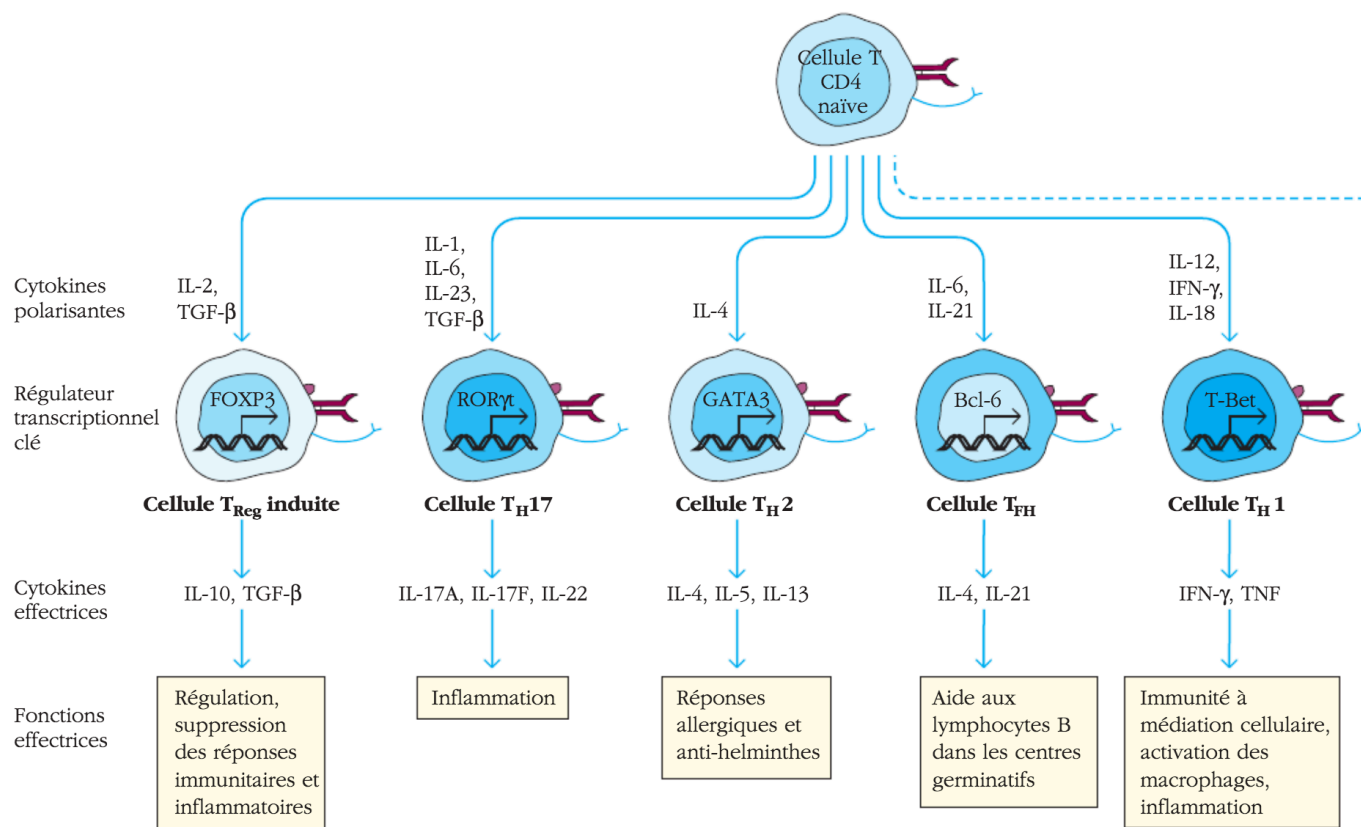


Figure 5 : Différenciation des sous-populations LT auxiliaires (17)

En fonction de leurs différenciations, les LT auxiliaires sécrèteront certaines cytokines effectrices afin de potentialiser la réponse immunitaire en fonction de l'agent pathogène présent. Dans le cas des cellules cancéreuses, on retrouve principalement des réponses anti-tumorales LT TH1 et TH17, ou pro tumorales TH2. En effet, la réponse TH2 se caractérise par une action contre les pathogènes extra-cellulaires, via la stimulation par l'IL-4 des LB et des éosinophiles. Or, les LT TH2 sont beaucoup moins efficaces que les LT TH1 contre les cellules tumorales.

Il a par ailleurs été démontré que l'IL-4 permet la différenciation des LT naïfs vers la réponse TH2. Cette cytokine permet un recrutement plus efficace des LT naïfs vers la voie TH2 que les cytokines effectrices de la voie TH1 (IFN- γ et TNF- α) (17). De plus, l'IL-4 diminue la sécrétion de l'IL-12, cytokine pro-TH1, par les cellules présentatrices de l'antigène, ce qui renforce la polarisation TH2.

Ainsi, c'est en détournant les LT naïfs vers une voie moins efficace contre les cellules tumorales que la voie TH2 est considérée comme pro-tumorale.

I.2.3. Immunoédition des cancers

Plusieurs études (17,19) se sont intéressées à la réponse inflammatoire dans le microenvironnement tumoral. Ainsi, il existerait 2 types d'inflammation : anti-tumorale et pro-tumorale. L'évolution du cancer à travers la multiplication de ses cellules n'est possible que grâce à l'évolution de la réponse immunitaire. En effet, une inflammation initiale anti-tumorale, se transforme progressivement vers un état d'équilibre pour enfin permettre un

échappement de certaines cellules au systèmes immunitaire entrainant une prolifération tumorale qui est partiellement liée à une inflammation considérée comme pro-tumorale.

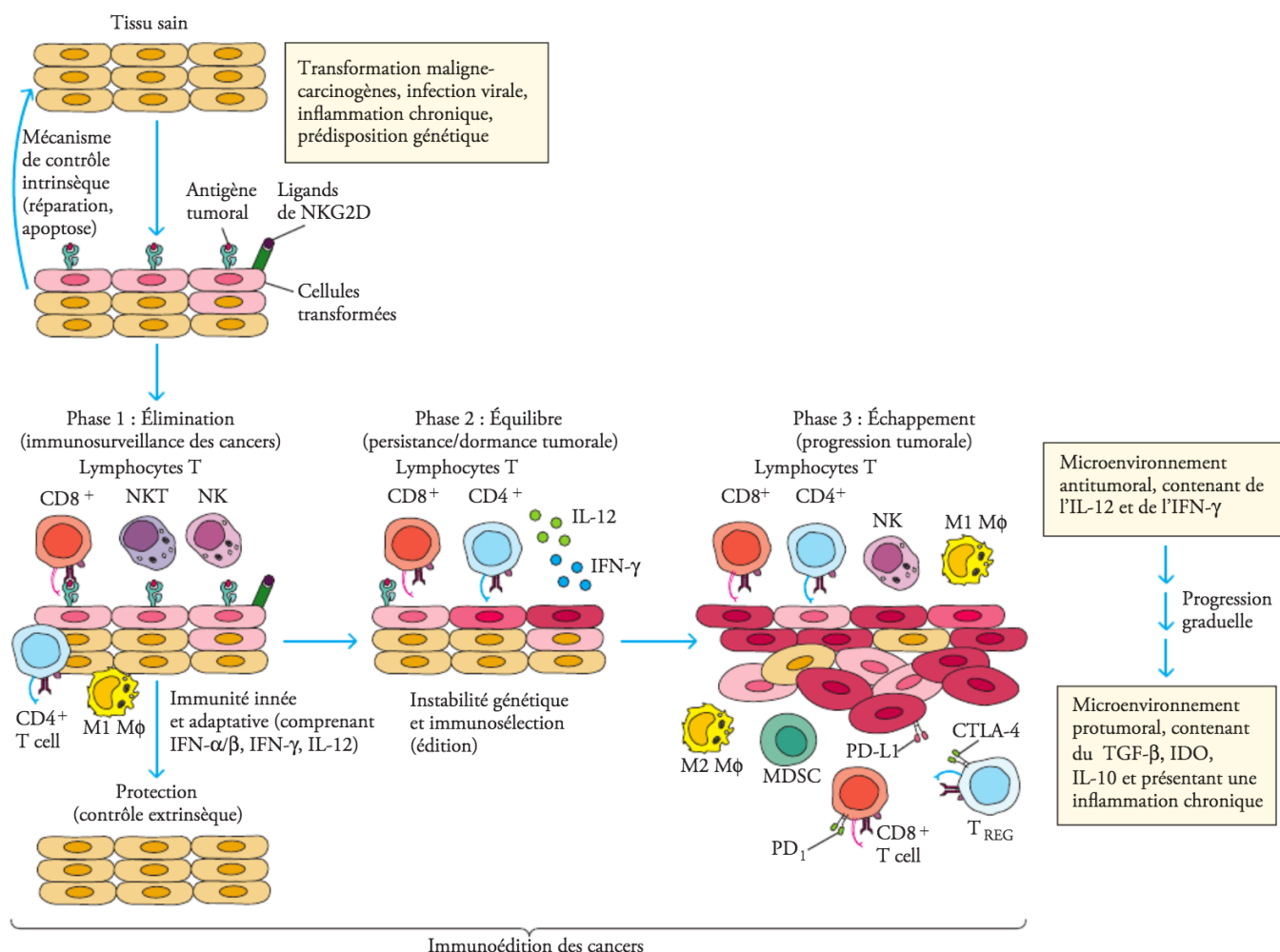


Figure 6 : Immunoédition des cancers (17)

I.2.3.1. Phase précoce et équilibre

Les cellules de l'immunité innée impliquées dans l'inflammation anti tumorale initiale sont les macrophages inflammatoires, les cellules dendritiques et les cellules NK. Ce processus a été depuis longtemps décrit car il permet d'éliminer les cellules cancéreuses tout au long de la vie. Ainsi, les NK détruisent de manière systématique toutes les cellules ne présentant pas de CMH ou présentant un CMH endommagé. Ces mêmes NK peuvent aussi stimuler l'action des LT CD8 cytotoxiques via la sécrétion de l'interféron (IFN) γ et des LT via la sécrétion d'IL 12. Les macrophages peuvent se lier aux anticorps présents à la surface des cellules tumorales et activent leur cytotoxicité, sans être restreints par le CMH. Ils sécrètent aussi la cytokine TNF-α, possédant une activité pro-apoptotique via les récepteurs TNF-R1.

Après l'apparition et la multiplication des cellules cancéreuses, un état "d'équilibre" se crée: les cellules tumorales sont détruites par l'infiltrat lymphocytaire (un mélange de LT et NK), et les macrophages. Ce processus permet de sélectionner les cellules tumorales les moins immunogènes afin de ne pas être détruites par le système immunitaire et permettre ainsi la prolifération de ces cellules sélectionnées. L'un des mécanismes permettant l'échappement

au système immunitaire est l'expression de PD-L1. En effet, ce ligand se fixe sur le récepteur PD-1 des NK et inhibe leur activation (17).

I.2.3.2. Mécanismes d'échappement au système immunitaire

L'inflammation, quand elle évolue de manière chronique, peut devenir pro-tumorale. Ainsi, les réponses inflammatoires amplifient les signaux de stress cellulaires amenant à un stress génotoxique qui majore la fréquence des mutations et donc la carcinogenèse. Ainsi, plusieurs mécanismes peuvent entraîner cet échappement. Deux grand axes se dégagent: la résistance à l'apoptose et la modification du caractère antigénique. Les cellules tumorales peuvent aussi développer la capacité à se multiplier suite à la stimulation par différents facteurs de croissance et cytokines sécrétées par les leucocytes auxquelles ces cellules étaient initialement insensibles (17).

I.2.3.2.1. Modification du caractère antigénique

Un des mécanismes permettant aux cellules tumorales d'échapper au système immunitaire est de modifier l'expression des molécules de CMH de classe I, qui ne peut plus être reconnue par les LT CD8 cytotoxiques. Ce processus a été décrit dans plusieurs cancers et est lié à un mauvais pronostic (20).

Les cellules tumorales peuvent également arrêter d'exprimer des antigènes à leur surface pouvant être reconnus comme non-soi par le système immunitaire, alors que les autres antigènes normaux continuent d'être présentés, afin d'éviter que la cellule soit détectée par le système immunitaire (21)

I.2.3.2.2. Résistance à l'apoptose

L'un des principaux modes de destruction des cellules tumorales par le système immunitaire est l'apoptose, médiée par l'exocytose d'enzymes lytiques et des récepteurs induisant la mort cellulaire. Les lymphocytes T CD8 ont un rôle majeur via l'activation de leur récepteur CD95/Fas ligand dans la destruction de ces cellules. Or l'expression de ce récepteur peut être inactivée, diminuée ou mutée suite à la sécrétion de récepteurs solubles sCD 95 et DcR3 par les cellules tumorales. Ces récepteurs solubles empêchent l'activation des récepteurs CD95/Fas et donc l'activation des CD8. Une autre voie d'inhibition de l'apoptose mise en place par les cellules tumorales est la surexpression de la protéine FLICE-inhibitory protein, qui bloque la voie intrinsèque du récepteur CD95/Fas (22). Les tumeurs peuvent également sécréter du PI-9 qui inhibe la granzyme B (principale enzyme lytique des cellules NK) (23).

I.2.4. Microenvironnement tumoral

Au cours du développement des tumeurs, comme décrit précédemment dans le chapitre sur l'immunoédition tumorale, une inflammation chronique se développe. L'interaction chronique entre cellules tumorales et cellules immunitaires adjacentes entraîne l'apparition de certaines cellules immunitaires à visée immunosuppressive, regroupées sous le nom de Myeloid Regulatory Cells (MRCs). Celles-ci entraînent une réponse immunitaire alternative de type N2, pro-tumorale. Elles sont composées de 4 grandes familles: les Tumor Associated Neutrophils (TAN), les Myeloids Derived Suppressors Cells (MDSC), les Tumor Associated Macrophages (TAM) et les Tumor Associated Fibroblasts (TAF).

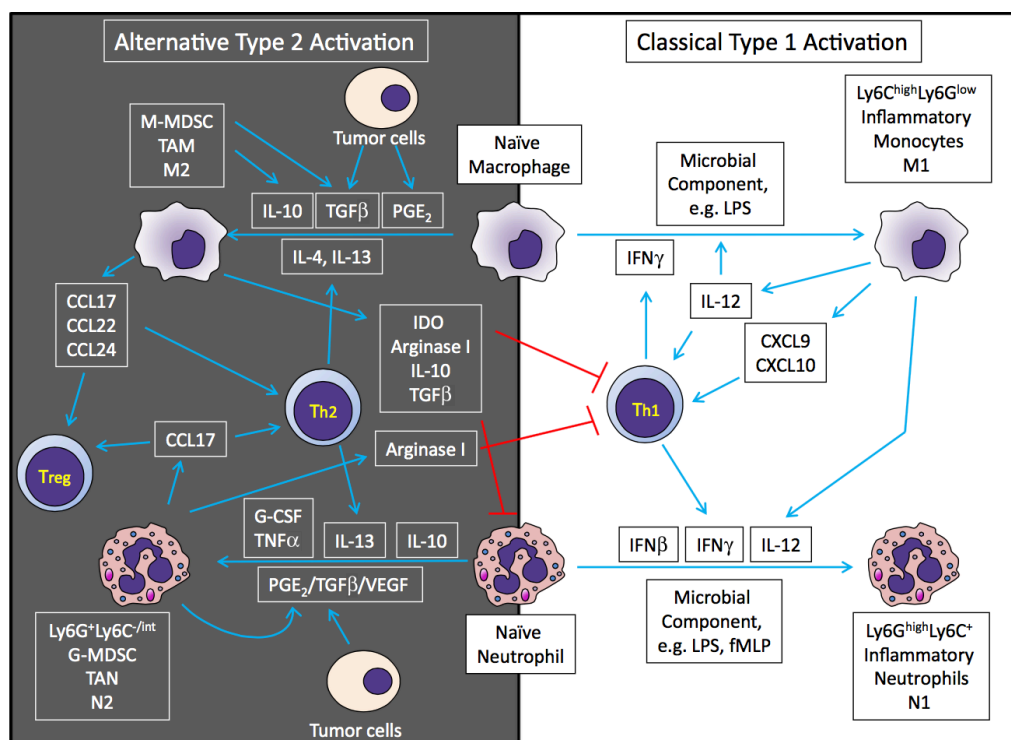


Figure 7 : Différentes voies de stimulation des cellules de la lignée myéloïde vers une différenciation N1 (anti-tumorale) ou N2 (pro-tumorale) (24)

I.2.4.1. Tumor Associated Neutrophils

Les polynucléaires présentent en réalité une grande plasticité (13) et sont donc composés de plusieurs sous-groupes, possédant chacun des particularités très différentes. La difficulté réside dans le peu de marqueurs membranaires spécifiques de chaque sous-population. On retrouve en effet dans le sang les High Density Neutrophil (HDN) et les Low Density Neutrophil (LDN) qui regroupent 2 sous-types de PNN : les LDN matures et immatures différenciés principalement au niveau de l'expression des marqueurs membranaires CD11b and CD66b. Une fois arrivées dans le microenvironnement tumoral, ces cellules deviennent des Tumors Associated Neutrophils (TAN). Les PNN circulants et les TAN peuvent présenter 2 types de réponses face à la tumeur: N1 anti-tumorale ou N2 pro-tumorale. La différenciation vers l'une ou l'autre de ces réponses n'est pas encore totalement expliquée, mais les études montrent que ces TAN seraient très sensibles aux cytokines présentes dans leur environnement. Il semblerait que la sécrétion de TGF- β par les cellules tumorales entrainerait une différenciation des TAN vers une réponse N2, alors qu'une sécrétion d'IFN Béta permettrait d'orienter les TAN plutôt vers une réponse de type N1.

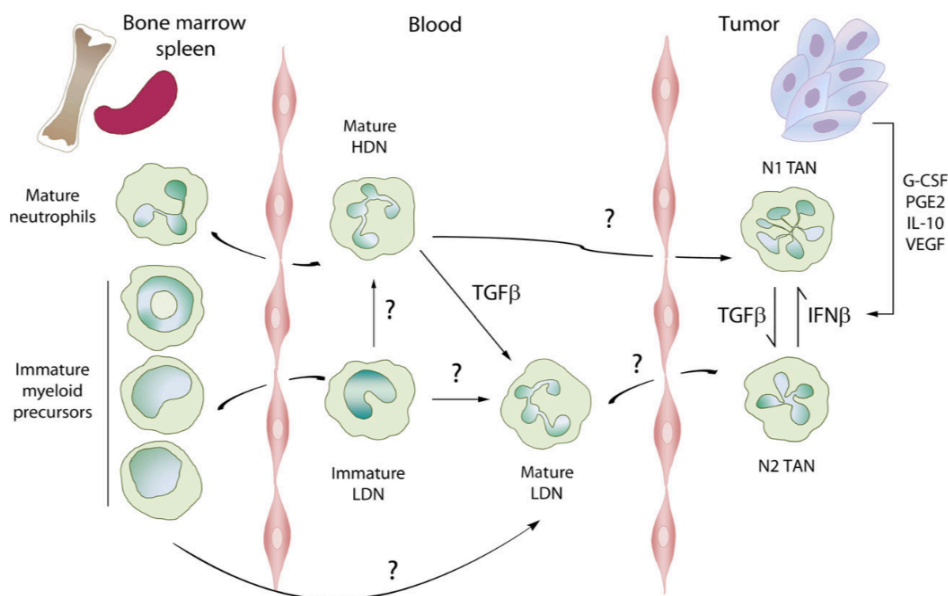


Figure 8 : Cycle de prolifération et de réponse N2 des PNN (13)

Le tableau ci-dessous énumère, dans l'état actuel des connaissances, l'ensemble des données connues sur l'effet des cytokines sur les TAN, réalisées sur des modèles murins. De nombreuses expériences sont en cours sur l'Homme mais leur réalisation est difficile de par la nécessité de prélever de manière répétée des tissus.

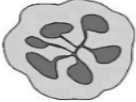



N1 TANs	N2 TANs
<ul style="list-style-type: none"> TNFα \uparrow CCL3 \uparrow ICAM1 \uparrow ROS \uparrow Fas \uparrow Arg1 \downarrow CCL2 \downarrow CCL5 \downarrow VEGF \downarrow BV8 \downarrow MMP9 \downarrow CXCR4 \downarrow 	<ul style="list-style-type: none"> TNFα \uparrow ICAM1 \downarrow Arg1 \uparrow iNOS \uparrow CCL2 \uparrow CCL5 \uparrow VEGF \uparrow MMP9 \uparrow CCL17 \uparrow CCR5 \uparrow CCR7 \uparrow 4-1BBL \uparrow OX40L \uparrow CD86 \uparrow CD54 \uparrow
 <p>Mature Hypersegmented (?) Tumor cells cytotoxicity CD8+ T cell recruitment ADCC, enhanced apoptosis Proinflammatory cytokines</p>	 <p>Mature Tumor permissive CD4+ T cells recruitment Promote extravasation Angiogenesis Immune suppression</p>
<ul style="list-style-type: none"> HDN CXCR1 \uparrow CXCR2 \uparrow CD62L \uparrow ROS \uparrow 	<ul style="list-style-type: none"> LDN CCL2 \downarrow CCL3 \downarrow CXCL1 \downarrow CXCL2 \downarrow CXCL10 \downarrow CXCR2 \downarrow CD62L \downarrow CCR5 \downarrow
 <p>High density Mature Tumor cell cytotoxicity High phagocytic ability</p>	 <p>Low density Mature and immature Reduced phagocytosis Reduced oxidative burst Limit CD8+ T cell proliferation Increased lifespan</p>

Figure 9 : Caractéristiques morphologiques des HDN, LDN et des TAN dans les modèles murins (13)

Les cellules présentant une réponse N1 ont comme caractéristique commune une expression plus importante de ROS, ligand permettant d'activer la mort cellulaire, et de CXCR1 et CXCR2, récepteur à l'IL-8 pro inflammatoire, stimulant le recrutement des cellules myéloïdes dans les tissus cibles.

Les cellules orientées vers la réponse N2 diminuent l'expression de l'ensemble de leurs récepteurs pro-inflammatoires comme CXCL1, CXCL2, CXCL10, CCL2, CCL3, CCR5, CXCR2, et CD62L qui ont pour fonction de stimuler les macrophages.

Les TAN sécrètent également différentes substances dont :

- Certaines à visée anti-inflammatoire comme l'arginine 1 qui diminue la sensibilité lymphocytaire,
- Certaines favorisant la néoangiogenèse comme le VEGF (12), ou les enzymes MMP8, MMP9 et ADAM9 qui favorisent le remodelage de la matrice extracellulaire afin de faciliter celle-ci (25),
- Certaines entraînant une augmentation de l'expression PD-L1 par les TAN via l'IFN- γ ,
- Certaines augmentant la prolifération cellulaire grâce à la sécrétion d'élastase (26)
- Certaines entraînant la diffusion de métastases grâce à l'oncostatine M (27), associée à l'activation de la voie TLR9 (28) et une expression de la neutrophils extracellular traps (NET).

Le processus est d'autant amplifié que les cellules cancéreuses peuvent sécréter des cytokines stimulant la production de cellules de la lignée myéloïdes comme l'IL-8, le granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF), le PDGF, et MIP1 (29,30).

I.2.4.2. Myeloid Derived Suppressor Cells

Ce groupe des Myeloid Derived Suppressor Cells (MDSC) correspond à un ensemble de cellules très hétérogènes, composé de cellules issues de la lignée myéloïde immature, de progéniteurs, et de cellules matures appartenant aux lignées mononucléaires et polynucléaires. On divise cette population de cellules en 2 grandes catégories: les monocytes MDSC (MDSC-Mo) exprimant les co-récepteurs CD11b et Ly-6C et les MDSC Granuleux (G-MDSC) exprimant les récepteurs CD11b et Ly-6G. Ces cellules matures granuleuses, issues de progénitures tardives, peuvent se transformer en TAN ou MDSC en fonction des facteurs présents dans le microenvironnement tumoral.

On note une grande ressemblance entre les PNN et les G-MDSC, c'est pourquoi il est extrêmement difficile de les détecter dans le sang. Ces cellules peuvent avoir plusieurs fonctions. Leur rôle principal est immunosuppresseur à travers la sécrétion d'arginase I et de nitric oxide synthase qui entraîne la libération de réactifs oxygénés. Ces réactifs oxygénés comme le peroxy-nitrite et l'hydrogène diminuent la fonction de la chaîne θ des lymphocytes T et donc leur capacité à reconnaître les antigènes (25). Une autre fonction paracrine de ces cellules est la baisse du taux extracellulaire de L-arginine et de L-cystéine qui diminue la prolifération lymphocytaire (25). Ces cellules peuvent aussi avoir une action sur les LT CD8 cytotoxiques en abaissant leur capacité de lyse cellulaire (31). Les G-MDSC favorisent également la néoangiogenèse via la sécrétion de MMP9 et de VEGF principalement (25), et la migration des cellules cancéreuses via la destruction de la matrice extra-cellulaire (32). Ces cellules peuvent également sécréter la cytokine S100A8/A9 qui a une action paracrine proto-oncogène sur les cellules tumorales.

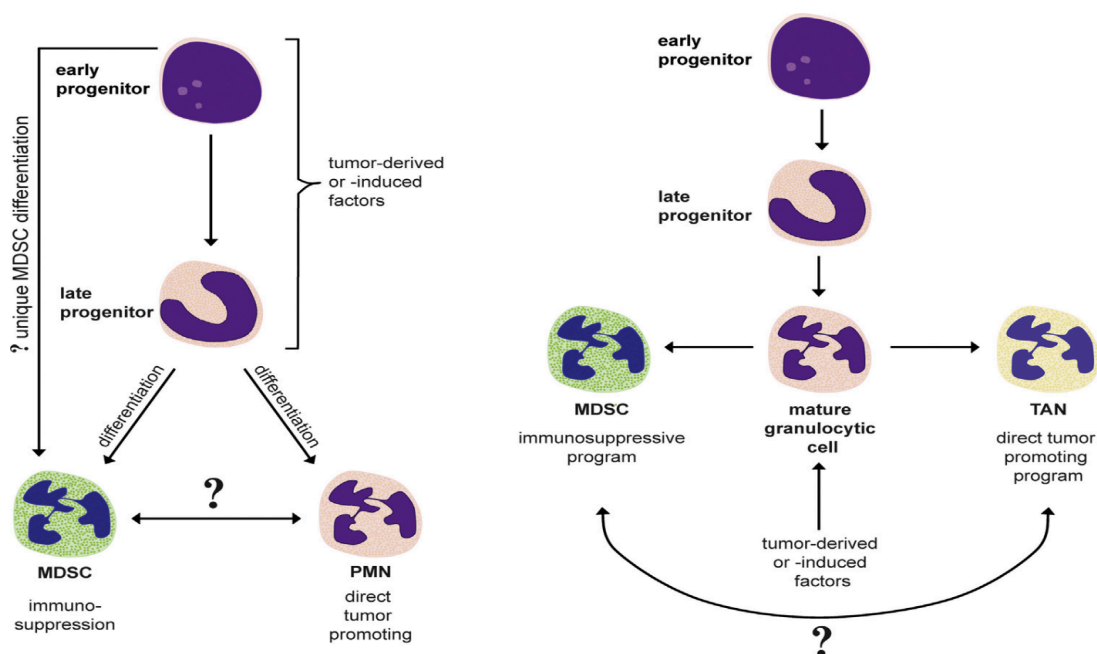
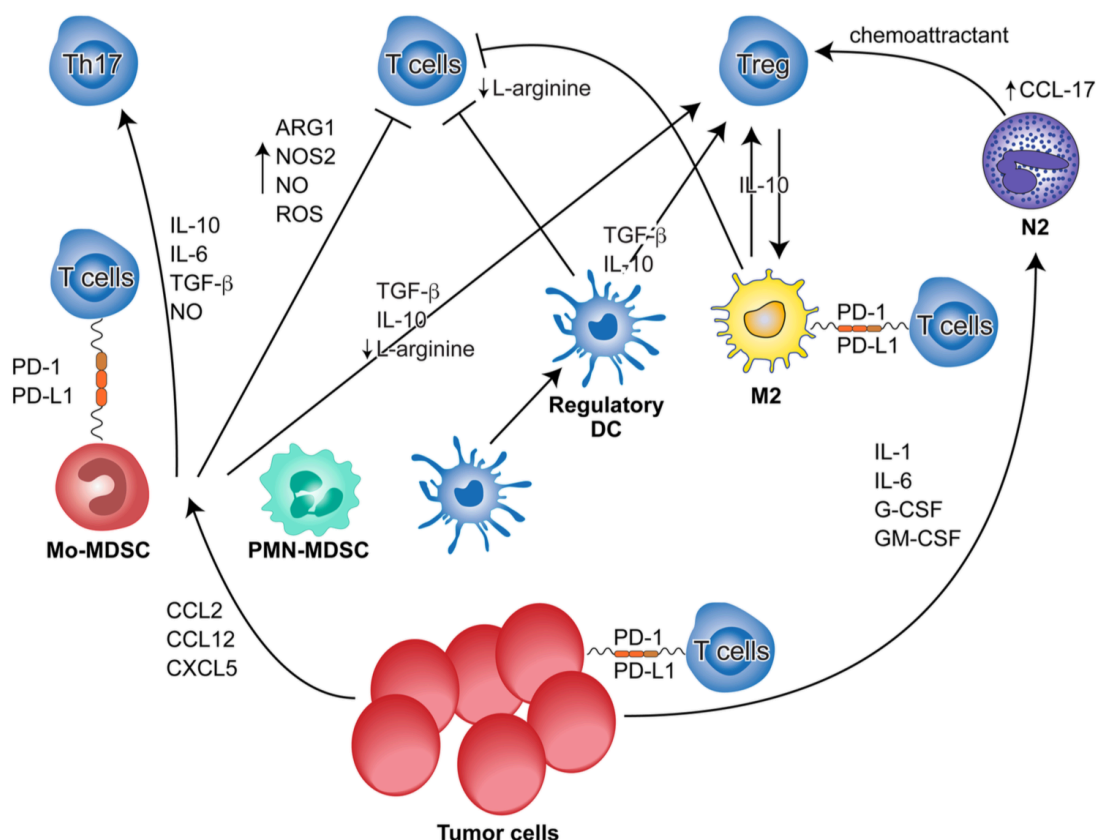


Figure 10 : Modèle représentant le lien entre G-MDSC et PMN (25)

I.2.4.3. Tumor Associated Macrophages

Au cours de l'inflammation initiale, les macrophages sont attirés par l'inflammation et s'accumulent progressivement dans les tissus concernés. Dans certaines conditions, et particulièrement l'hypoxie, ces macrophages peuvent modifier leurs immunophénotypes et se transformer en TAM à visée immunosuppressive (33). Les cellules tumorales peuvent également sécréter des cytokines telles que le Macrophage Colony Stimulating Factor (M-CSF) qui va favoriser la différenciation des monocytes en TAM (34).

Ces TAM peuvent être divisés en 2 catégories en fonction de leur degré d'expression de CMH de type II : les cellules avec une faible expression de CMH (MHC-II low) et les cellules avec une forte expression de CMH (MHC-II high). Les premières présenteraient un aspect similaires aux macrophages de type M2, avec une capacité importante d'immunosuppression lymphocytaire. Les secondes seraient plus proches des macrophages de type M1 mais avec une plus grande tolérance envers les antigènes exprimés par les cellules tumorales. Elles génèrent l'action des cellules dendritiques et des LT via la sécrétion de l'IL-10 (35).



M2 macrophages, *N2* tumor- associated neutrophils, *Mo-MDSC* Monocyte MDSC, *PMN-MDSC* polymorphonuclear MDSC, *DC* cellule dendritique, *Treg* Lymphocyte T régulateur

Figure 11 : Micro environnement tumoral (36)

I.2.4.4. Tumor associated Fibroblasts

Les fibroblastes sont des acteurs-clés dans la reconstruction des tissus altérés au cours de l'inflammation. Ils sécrètent plusieurs substances permettant la prolifération de nouvelles cellules. Celles-ci se développent à partir des cellules souches mésenchymateuses et leur développement est directement régulé par certaines cellules souches médullaires Sca+ cKit- granulin-positives (37). Les fibroblastes se transforment suite à des stimulants locaux en TAF. Leur rôle est alors double: stimuler la croissance des cellules tumorales et avoir une activité immunosuppressive locale (avec notamment l'expression de la protéine- α , et de FAP- α).

I.3. Le traitement par nivolumab dans le cancer du poumon

Les cellules cancéreuses, comme démontré précédemment, ont mis en place différents mécanismes afin d'échapper au système immunitaire. L'un d'eux consiste à présenter à leur surface des molécules de co-stimulation négative, comme le PD-1, afin d'inhiber la réponse lymphocytaire. Des traitements, tel le nivolumab, ont donc été développés afin de lutter contre ce système mis en place par les cancers.

I.3.1. Les mécanismes d'action des anti PD-L1

I.3.1.1. La voie de signalisation PD-1/PD-L1

La molécule Program Death-1 (PD-1) est une molécule de costimulation négative. Elle inhibe l'activation lymphocytaire induite par le TCR présent à la surface de ceux-ci. PD-1 est exprimé par les LB et les LT et se lie à deux ligands de la famille B7 présents physiologiquement sur les cellules présentatrices d'antigènes : PD-L1 (B7-H1) et PD-L2 (B7-H2). PD-L1 pourrait participer à la tolérance des LT dans les tissus non hématopoïétiques en régulant la différenciation des LT régulateurs. Certaines cellules tumorales des CBNPC présentent des récepteurs PD-L1.

Le récepteur PD-L2 présente un domaine extracellulaire de la superfamille des immunoglobulines et un domaine intracellulaire, cytoplasmique, contenant deux motifs tyrosine : un motif ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif), permettant la transduction d'un signal inhibiteur et un motif ITSM (immunoreceptor tyrosine-based switch motif), associé à un signal d'adaptation (38).

Les cytokines IFN- γ et TNF- α secrétées par les LB, les LT, les cellules endothéliales, les cellules épithéliales, les cellules constitutives du cœur, du foie, du pancréas et du poumon régulent l'expression de PD-L1. L'expression de PD-L2 est régulée par l'IL-4 et l'IFN secrétés par les cellules dendritiques, les macrophages, les mastocytes et quelques lymphocytes B. L'affinité de PD-L2 pour PD-1 est 3 fois plus grande que celle de PD-L1 et on observe une compétition entre ces deux ligands (39).

Quand le récepteur PD-1 est activé par la présence de PD-L1 ou de PD-L2, il va inhiber les kinases chargées d'activer les lymphocytes T via l'inhibition de la phosphorylation intracellulaire du TCR et de ZAP-70. Ce processus entraîne une régulation négative du gène RAS, inhibant la prolifération cellulaire et la survie (40).

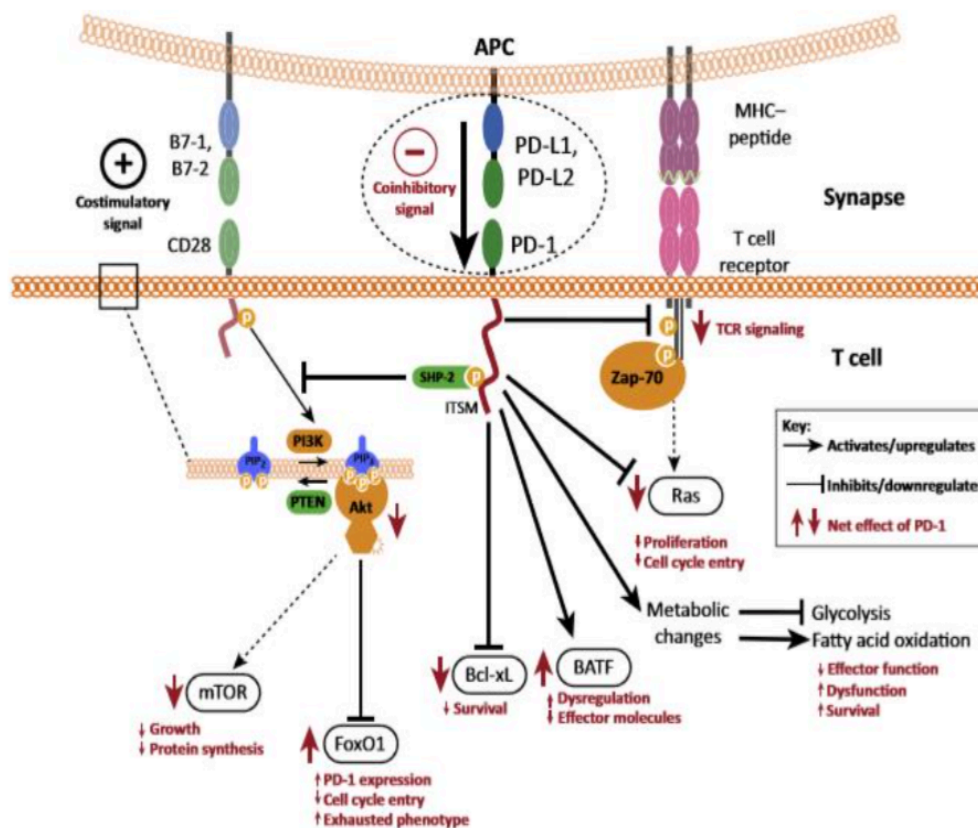


Figure 12 : Activation de la voie PD-1/PD-L1 (41)

I.3.1.2. La modification de la voie PD-1/PD-L1 dans le CBNPC

On note l'expression de PD-1 dans une large proportion des lymphocytes infiltrant les tumeurs, principalement composés de lymphocytes T régulateurs. L'interaction PD-1/PD-L1 entraîne la différenciation des LT CD4 naïfs en LT reg. Cette forte proportion de LT régulateurs autour des tumeurs explique en partie l'immunoévasion (42) via l'action des LT reg sur les LT CD8 qui perdent leur capacité à produire des molécules cytolytiques (cytokines pro inflammatoires ou perforines) (43).

Le PD-L1 est le principal ligand exprimé à la surface des cellules tumorales dans les cancers solides. Dans les CBNPC, on retrouve une expression plus élevée de PD-L1 dans 19 à 100% des CBNPC, selon la technique utilisée (44). Cette surexpression de PD-L1 est associée avec les adénocarcinomes et les sarcomatoïdes de mauvais pronostic (44), les ligands PD-L1 présents sur les cellules tumorales inhibant la réponse lymphocytaire.

L'action de PD-1 est bien caractérisée sur les LT, mais moins sur les LB. En effet, l'expression de PD-1 n'est pas détectable sur les précurseurs pro-B, mais il est possible de la détecter sur des LB matures. Le blocage de ce récepteur conduit à l'inhibition de la réponse clonale des LB (45).

I.3.1.3. Le nivolumab

Le nivolumab est un anticorps de type IgG4, totalement humanisé, de type anti-PD-1. Il a pour objectif de bloquer les récepteurs PD-1 présents sur les LT sans les activer, afin d'éviter que ceux-ci se lient aux récepteurs PD-L1 ou PD-L2 présents sur les cellules

cancéreuses. L'objectif est donc de bloquer un des mécanismes immunosuppresseurs mis en place par les cellules cancéreuses et ainsi permettre aux différentes cellules présentant des récepteurs PD-L1 de retrouver leurs fonctions immunitaires initiales.

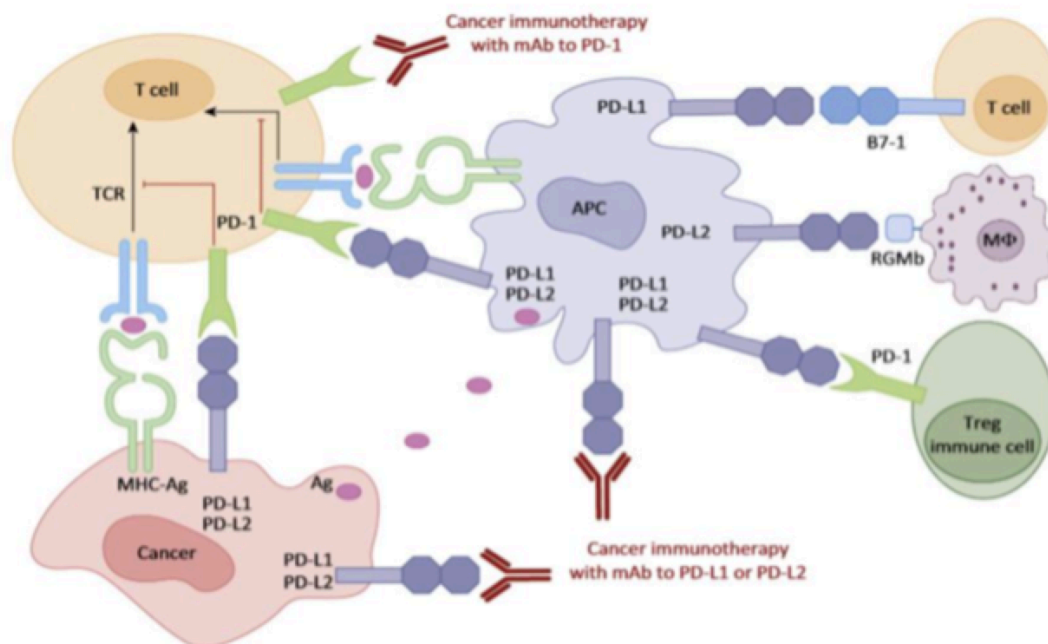


Figure 13 : Mode d'action des anticorps anti-PD-1 et anti PD-L1 (39)

I.3.2. Indication du nivolumab en 2^{ème} ligne de traitement

Le nivolumab est le premier anti-PD-1 à avoir obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché en 2016, après avoir démontré sa supériorité par rapport au docetaxel, traitement de référence à l'époque en 2^{ème} ligne de traitement dans le CBNPC, après un doublet de chimiothérapie à base de sels de platine. C'est donc l'immunothérapie pour laquelle nous disposons du recul le plus important au niveau de la pratique courante en France.

Ce traitement a démontré dans les cancers épidermoïdes une supériorité en termes (1) :

- de survie globale (nivolumab à 9.2 mois [IC₉₅, (7.3-13.3)] versus 6.0 mois [IC₉₅, (5.1-7.3)] pour le docetaxel, $p < 0.001$),
- de survie à 1 an (42% pour le nivolumab [IC₉₅, (24-50)] versus 24% pour le docetaxel [IC₉₅, (17-31)]),
- de taux de réponse (42% pour le nivolumab vs 9% pour le docetaxel, $p = 0.008$),
- de survie sans progression (3.5 mois avec le nivolumab versus 2.8 mois avec le docetaxel (HR for death or disease progression, 0.62; [IC₉₅, 0.47-0.81]; $P < 0.001$))
- d'effets indésirables de grade 3 et 4 (7% dans le groupe nivolumab vs 55% dans le groupe docetaxel)

Dans les cancers non épidermoïdes, les avancées ont été similaires (2) :

- Une amélioration de la survie globale : 12.2 mois [IC₉₅, (9.7-15)] dans le groupe nivolumab contre 9.4 mois [IC₉₅, (8.1-10.7)] dans le groupe docetaxel (p=0.002),
- Une amélioration de la survie à 1 an : 21% dans le groupe nivolumab contre 39% dans le groupe docetaxel
- Une amélioration du taux de réponse : 19% dans le groupe nivolumab contre 12% dans le groupe docetaxel (p=0.02)
- Le taux d'effets indésirables de grade 3 et 4 était de 10% dans le groupe nivolumab contre 54% dans le groupe docetaxel.

Deux autres immunothérapies ont aussi montré leurs intérêts dans le traitement du CBNPC en 2^e ligne.

Tout d'abord, le pembrolizumab a démontré chez des patients présentant un CBNPC avec un PD-L1 supérieur à 1%, un gain en termes (46) :

- De survie globale avec une différence significative de la survie globale à 17,4 mois dans le groupe pembrolizumab contre 8,2 mois dans le groupe docetaxel, avec un hazard ratio à 0.61, IC₉₅(0.49-0.75), p<0.0001
- De survie sans progression avec 5.2 mois dans le groupe pembrolizumab contre 4,1 mois dans le groupe docetaxel, HR à 0.59, IC₉₅(0.45-0.78); p<0.0001
- D'effets indésirables de grade 3 ou 4 avec 16% seulement dans le groupe immunothérapie contre 35% dans le groupe chimiothérapie

Ensuite, l'atezolizumab est le seul anti PD-L1 ayant démontré son efficacité dans le cadre de l'étude OAK en 2^{ème} ligne de traitement dans le CBNPC en ce qui concerne (47) :

- La survie globale avec une médiane de survie à 13,8 mois, IC₉₅ (11.8-15.7) dans le groupe étudié contre 9,6 mois, IC₉₅ (8.6-11.2) dans le groupe contrôle sous docetaxel avec un hazard ratio à 0,73, IC₉₅(0.62-0.87), p=0,0003. Cette amélioration de la survie globale concernait aussi bien les patients atteints de cancer épidermoïde que non épidermoïde. Aucune différence statistiquement significative n'était retrouvée entre les groupes présentant un marqueur PD-L1 élevé et ceux avec un PD-L1 négatif,
- Le taux d'effets indésirables de grade 3 ou 4, avec seulement 15% des patients touchés dans le groupe atezolizumab contre 43% dans le groupe docetaxel.

I.4. Facteurs clinico-biologique prédictifs de réponses à l'immunothérapie

Le traitement par nivolumab a certes montré une supériorité concernant le docetaxel en terme de survie globale, de survie sans progression et de taux de réponse (1,2). Cependant, en fonction du type histologique, la survie globale varie entre 9,2 mois (1) et 12,2 mois (2). Le taux de réponse fluctue lui entre 12% (2) et 45% (1). Plusieurs études ont donc recherché quels facteurs pourraient être prédictifs ou pronostiques de réponse au traitement.

I.4.1. Facteurs cliniques de réponse à l'immunothérapie

I.4.1.1. Statut tabagique

Le statut tabagique actif des patients, en raison du caractère inflammatoire chronique et mutagène de celui-ci, pourrait être un facteur prédictif de réponse au traitement (48,49). En effet, les mutations génomiques liées au tabac dans le cancer du poumon ont été longuement étudiées : il s'agit des pertes des bases 3p, 5q, 6q, 8p, 15q, 17p and 18q et d'un gain de bases au niveau des loci 1q, 8p et Xq (50,51). Or, ces mêmes mutations sont prises en compte dans le TMB (Tumor Mutational Burden, TMB). Le TMB mesure la quantité de mutations au sein d'une tumeur. Un TMB élevé, supérieur à 10, est un facteur prédictif de réponse à la double immunothérapie par nivolumab et ipilimumab en 1^e ligne (52).

I.4.1.2. Caractéristiques radiologiques

Aucune étude concernant le poumon n'a permis de montrer un modèle particulier dans la description des lésions initiales avant mise sous immunothérapie, contrairement à ceux identifiés avec les critères de iRECIST en médecine nucléaire pour le mélanome (53).

I.4.1.3. Localisations métastatiques

L'analyse des résultats de l'étude Keynote 001, étude de phase 1 du pembrolizumab dans le CBNPC portant sur 165 patients, a permis de mettre en évidence une différence significative dans la survie sans progression chez les patient traités par pembrolizumab entre ceux présentant des métastases hépatiques et ceux sans : PFS médiane à 1.8 mois [IC₉₅(1.4–2.0)] dans le groupe avec des métastases hépatiques, contre 4 mois [IC₉₅(2.1–5.1)] dans le groupe sans, avec $p = 0.0094$ (54). Des résultats similaires étaient aussi retrouvés en analyse multivariée par Bagley et al (7) avec un Hazard Ratio à 2.13 (IC₉₅ (1.3–3.4, $p=0.002$). Ce phénomène pourrait être expliqué par plusieurs mécanismes : l'activation incomplète des lymphocytes T CD8 (42,55–57), le piégeage des LT CD8 activés (43,58), le peu de LT CD4 activés au niveau hépatique (44) et l'hyperactivité des cellules de Kuppfer stimulant les LT régulateurs (56).

La présence de métastases au niveau du système nerveux central (45) ne permet pas à l'immunothérapie d'améliorer la survie globale (HR, 0.76; $p=0.390$) et la survie sans progression (HR, 0.74; $p=0.210$), si l'on compare les résultats au niveau de ces 2 variables entre les groupes présentant des métastases cérébrales et ceux sans.

La présence de métastases osseuses est aussi un facteur indépendant de mauvais pronostic démontré récemment (59). Les cellules métastatiques osseuses présentent généralement le fibroblast growth factor receptor 1, sensible au fibroblast growth factor, cytokine présente de manière importante au niveau des tissus osseux (60). De plus, les métastases osseuses produisent un surplus de parathyroïde hormone related peptide (PTHrp) qui majore la production et la libération du fibroblast growth factor entraînant un cycle de croissance délétère (61).

I.4.1.4. Chimiothérapies antérieures

Le nivolumab ayant initialement démontré son efficacité en 2^{ème} ligne (1,2), la réponse au traitement précédant la mise sous nivolumab est un facteur pronostique indépendant en analyse multivariée de réponse à l'immunothérapie (6,59,62). Les OR varient selon les études de 0.0011 ($p<0.0001$) (62) à 0.292 ($p=0.044$) (6).

Dans l'étude réalisée par Kobayashi et al (62) sur 50 patients japonais, la répartition du nombre de lignes de traitements précédents l'immunothérapie était assez diverse : 10 patients (20%) avaient reçu une seule ligne de chimiothérapie, 9 patients (18%) en avaient reçu 2, 14 patients (28%) en avaient reçu 3 et 17 patients (34%) avaient reçu 4 lignes de traitement ou plus avant de débiter l'immunothérapie. Cette étude souligne bien le fait que c'est la réponse au traitement juste avant l'immunothérapie qui présente un intérêt prédictif pour la réponse au nivolumab. La réponse aux autres traitements antérieurs ne semble en revanche pas l'influencer ($p=0.25$).

Le délai entre la dernière cure du traitement avant mise sous immunothérapie et la 1^{ère} cure de celle-ci a aussi été étudiée. L'étude de Fachinetti et al, en prenant un cut off à 4 mois, montre l'impact d'une durée plus longue sans traitement sur la réponse au traitement ($p=0.002$) mais pas sur la survie globale ($p=0.14$) (59). L'étude de Kobayashi (62) prenant un cut-off à 3 mois ne retrouve aucun caractère prédictif à cette donnée ($p=0,39$).

I.4.1.5. Radiothérapie associée

Chez les patients non métastatiques d'emblée, une radiothérapie thoracique peut être proposée. Plusieurs études s'y sont intéressées et leurs résultats divergent. Deux études publiées en 2017, portant sur un total de 299 patients (98 et 201) montrent une amélioration de la survie sans progression (63,64). La première, publiée par Shaverdian et al.(63), rapporte une différence significative concernant la médiane de survie sans progression entre les patients ayant reçu une radiothérapie thoracique [6,3 mois IC_{95} (2.1–10.4)] et ceux n'en ayant pas reçu [2,0 mois IC_{95} (1.8–2.1)] avec un hazard ratio à 0,50 [IC_{95} (0.30–0.84), $p=0.0084$]. La survie globale était aussi améliorée avec un hazard ratio à 0,59 [IC_{95} (0.36–0.96), $p=0.034$]; avec une médiane de survie globale à 11,6 mois [IC_{95} (6.5–20.5)] dans le groupe radiothérapie thoracique contre 5,3 mois [IC_{95} (3.0–8.5)] dans le groupe sans.

Ces résultats sont corroborés par une seconde étude de Tamiya, portant sur 98 patients, publiée en 2017, retrouvant une différence non significative de survie sans progression (HR à 0,86 [IC_{95} (0.43-1.60), $p=0.635$] entre les patients ayant reçu une radiothérapie thoracique (3,3 mois) et ceux sans (2,2 mois) (64). On retrouvait cependant une différence statistiquement significative en analyse multivariée (HR à 0,59 [IC_{95} (0.35-0.93), $p=0.023$]) entre les patients ayant présenté une pneumopathie radique et ceux sans avec une médiane de survie sans progression à 3,6 mois versus 2,3 mois.

Seule une lettre à l'éditeur a été publiée dans les *Annals of Oncology* par Kataoka, expliquant que l'étude rétrospective qu'il avait menée sur 146 patients n'avait pas montré de différence significative sur la survie sans progression (HR à 0,65; [IC_{95} (0.37–1.14)] (65).

I.4.2. Facteurs biologiques de réponse à l'immunothérapie

Le caractère inflammatoire des cancers est connu depuis très longtemps. Au vu des différents types de réactions immunitaires possibles (cf. ci-dessus), les chercheurs ont démontré l'intérêt de plusieurs marqueurs prédictifs ou pronostiques.

I.4.2.1. Lymphocytes Natural Killer

Il a été montré que la présence de Lymphocytes Natural Killer (LNK) circulants, dont le rôle est de stimuler les LT, avait un lien direct avec la survie globale en analyse univariée avec une médiane de survie à 17,7 mois dans le groupe présentant un taux de LNK

supérieur à 190/ μ L contre 3,7 mois si leur taux était inférieur à 190/ μ L avec un HR à 0.47 en analyse multivariée [IC₉₅(0.21–1.04), p=0.063] (59).

I.4.2.2. Le taux de Prolactine

La prolactine est une cytokine pouvant être sécrétée par plusieurs tissus paracrines, avec des effets modulateurs sur les lymphocytes (66). Une étude a démontré que, sur les 20 patients ayant présenté une hyperprolactinémie, 19 (95%) présentaient une progression de leur CBNPC. Les taux de prolactine n'étaient pas disponibles pour les patients inclus dans l'étude (67).

I.4.2.3. Ratio PNN / Lymphocytes

Ce ratio a démontré dans différents cancers son intérêt pronostic et prédictif sous immunothérapie comme le souligne une méta-analyse publiée par Jiang en Février 2018 reprenant 27 études publiées sur l'immunothérapie dans différents types de cancers. Cette étude regroupait 4647 patients. Elle démontre qu'un rapport Polynucléaires Neutrophiles/ Lymphocytes (NLR) élevées au moment de la mise sous immunothérapie pourrait être associée à une baisse de la survie globale [HR=1.98, IC₉₅ (1.66–2.36), p< 0.001], et de la survie sans progression [HR=1.78, IC₉₅(1.48–2.15), p<0.001]. L'analyse en sous-groupe concernant uniquement les patients atteints de cancer pulmonaire retrouvait un HR à 1.50 [IC₉₅ (1.13–1.99), p=0.005] (68).

Ce ratio a été étudié par de nombreuses études à différents moments de la prise en charge du cancer pulmonaire. Ainsi, plusieurs méta-analyses ont démontré son intérêt prédictif de rechute après chirurgie, radio-chimiothérapie ou chimiothérapie (69–71). Concernant l'immunothérapie, des résultats contradictoires ont été mis en évidence.

Deux études ont démontré l'intérêt pronostic et prédictif du NLR au moment de la mise sous immunothérapie (6,7). La première étude portait sur 175 patients ayant reçu du nivolumab en 2^{ème} ligne de traitement. La médiane de NLR était de 5,5 (0,9-117). Les auteurs divisaient les patients en 2 groupes: ceux avec un NLR<5 et ceux avec un NLR>5. 73 patients (42%) présentaient un NLR<5, et 102 patients (58%) avaient un NLR>5. L'analyse multivariée démontrait qu'un ratio NLR>5 était associé à une baisse de la survie [HR=2.07, [IC₉₅(1.3–3.3), p=0.002] (7). La seconde étude présentait des résultats similaires avec un HR à 3.64 en analyse univariée [IC₉₅(1.78-7.46), p < 0.001] et à 5,01 en analyse multivariée [IC₉₅(2.03–12.37), p<0.001] (6).

Cependant, une étude portant sur 54 patients n'a pas constaté d'impact du NLR initial (p=1) mais de celui mesuré à 6 semaines (c'est à dire après 3 injections), sur la PFS (p<0.001) et la survie globale (p=0.003) (8).

L'évolution de ce rapport NLR après mise sous immunothérapie a été étudiée sur une population conséquente dans le cancer du rein avec 146 patients, démontrant qu'une majoration du NLR supérieur à 25% entraînait une baisse de la survie sans progression (p<0.001) et de la survie globale (p=0.004) (9).

En ce qui concerne le cancer pulmonaire, seule une étude a démontré, sur une population hétérogène de 19 patients, l'impact d'une majoration du NLR>30% sur la PFS entre la mise sous immunothérapie et la 2^{ème} injection (p=0.014) et entre la 2^{ème} et la 3^{ème} injection (p<0.001) (10).

Une seule étude prospective portant sur 54 patients a été publiée sur ce sujet. Elle confirme les résultats trouvés par les études rétrospectives au niveau de la survie globale avec un HR à 3.22 [IC₉₅(1.3–7.99); p=0.012] (59).

I.4.2.4. Derived Neutrophil Lymphocyte Ratio

Le derived Neutrophil Lymphocyte Ratio (dNLR) est défini par le rapport :

$$\text{dNLR} = \frac{\text{PNN}}{(\text{Leucocytes-PNN})}$$

Une valeur supérieure à 3 est définie comme élevée (72). Dans l'étude de Russo, aucun lien statistique n'a été retrouvé entre dNLR et la survie globale ou la survie sans progression mais on retrouvait un pourcentage plus élevé dans le groupe des patients progresseurs. Ceux-ci avaient un NLR>3 (28.5% vs 55%, p=0.0002) (72). Ces données ont été confirmées dans l'étude de Mezquita dans le cadre du Lung Immune Pronostic Index (73).

I.4.2.5. PLR

Le Platelet Lymphocyte Ratio est défini par le rapport :

$$\text{PLR} = \frac{\text{Plaquettes}}{\text{Lymphocytes}}$$

Deux études concernant ce ratio ont été réalisées. La première portait sur 42 patients, et retrouvait une baisse de la survie globale : 4,8 mois dans le groupe avec un PLR>328 contre 13,2 mois dans le groupe avec un PLR<193. Cette différence était statistiquement significative avec un Hazard Ratio à 4.1, [IC₉₅(1.5–11.3), p=0.006] en analyse univariée (6). Une seconde étude a trouvé un pourcentage plus élevé de patients avec un PLR>160 dans le groupe des patients progresseurs que dans le groupe des répondeurs à l'immunothérapie (75% vs 50%, p = 0.0004) (72).

La seconde étude plus importante avec 695 patients comprenant des patients ayant des cancers à plusieurs stades ne retrouvait pas de résultat statistiquement significatif entre le ratio PLR et la survie globale (p=0.217). L'intérêt de ce ratio est donc encore très débattu compte-tenu de ces résultats contradictoires entre les différentes études publiées (74).

I.4.2.6. Advanced Lung Cancer Inflammation Index

L'advanced lung cancer inflammation index (ALI) est défini par le rapport de l'indice de masse corporelle multiplié par le taux d'albumine, le tout divisé par le NLR.

$$\text{ALI} = \frac{\text{IMC} \times \text{albuminémie}}{\text{NLR}}$$

Une étude portant sur 201 patients a démontré qu'un ALI inférieur à 18 était associé à une baisse de la survie sans progression avec un HR à 1.83 [IC₉₅(1.31–2.54), p<0.001] en analyse univariée, confirmé par l'analyse multivariée avec un HR à 1.72 [IC₉₅(1.24–2.41); p=0.001]. Cet index est aussi prédictif d'une progression précoce dans les 6 mois avec un OR à 2.76 [IC₉₅(1.45–5.34), p=0.002]. Sur cette population, le taux de réponse globale était

de 15.9% [IC₉₅(11.2–21.7)], avec 85 patients (42.3%) présentant une progression dans les 8 premières semaines (75).

I.4.2.7. Lung Immune Pronostic Index

Le Lung Immune Pronostic Index (LIPI) est défini par un ratio dNLR supérieur à 3 et un taux de LDH supérieur à la limite supérieure de la normale, chaque facteur positif donnant un point (73). Les patients sont répartis en 3 groupes : bon (0 facteur), intermédiaire (1 facteur), mauvais (2 facteurs). Une étude a montré que, sur 431 patients, 63 (15%) avaient un score LIPI mauvais, 206 (48%) avaient un score intermédiaire et 162 (38%) un score bon. Les 2 variables sont associées à la survie globale avec un HR à 2.22 [IC₉₅ (1.23-4.01)] pour le facteur dNLR>3, et des LDH présentant un HR à 2.51 [IC₉₅(1,32-4,76)]. Les patients avec un score LIPI à 2 ont une médiane de survie globale à 4.8 mois [IC₉₅(3.6-7.7)] vs 10.0 mois pour le groupe intermédiaire [IC₉₅(7.3- 12.6)] vs 16.5 mois dans le groupe sans facteur LIPI [IC₉₅, (11.4-34.0), p<0.001]. L'analyse des critères secondaires a montré un lien intéressant concernant la survie sans progression avec 2.0 mois dans le groupe mauvais LIPI [IC₉₅, (1,7-4,0)] vs 3,7 mois dans le groupe intermédiaire [IC₉₅, (3.0-4.8)] versus 6,3 mois dans le groupe bon LIPI [IC₉₅(5.0-8.0) , p<0.001] (73).

I.4.2.8. Prognostic nutritional Index

Le Prognostic Nutritional Index (PNI) est défini par :

$$\text{PNI} = 10 \times \text{albumine sérique (g/dl)} + 0.005 \times \text{lymphocytes totaux par mm}^3$$

Une étude portant sur 20 patients a montré qu'un score PNI abaissé était statistiquement lié à une progression plus rapide du CBNPC sous immunothérapie (p=0.0016). Un taux bas d'albumine était aussi lié à un arrêt plus précoce du nivolumab (p=0.052). Aucun lien n'était trouvé entre l'arrêt précoce de l'immunothérapie et l'indice de masse corporelle (79).

I.5. Contexte de l'étude

L'ensemble des études précédemment citées ont toutes porté sur des populations globales, non sélectionnées sur leur réponse au traitement. Ainsi, aucune étude n'avait sélectionné une population spécifique en fonction de sa réponse au traitement afin de mieux souligner ses caractéristiques clinico-biologiques.

I.5.1. Patients hyperprogressseurs et progressseurs précoces

Après la mise sous immunothérapie, 2 patterns de progression ont été décrits : la progression précoce et l'hyperprogression. Le premier cas est défini dans la littérature (59) par une progression après seulement 4 injections selon les critères iRECIST 1.1.

Le second cas a été décrit par Champiat et al (76), en novembre 2016. Il est défini par un doublement de la vitesse de progression de la tumeur après mise sous immunothérapie. Les patients présentant l'une de ces 2 patterns de progression sous nivolumab ne sont pas de bons candidats pour ce traitement (76). Aucune étude, en dehors de l'étude ERORECI, actuellement en cours, menée par le Pr Vergnenegre dans le cadre du groupe français de pneumo-cancérologie, n'a étudié un nombre important de ces patients afin de trouver des caractères clinico-biologiques permettant de mieux les définir.

I.5.2. Patients longs répondeurs

Une étude récente a démontré que certains patients pouvaient répondre au nivolumab pendant plusieurs années, qui sont donc les grands bénéficiaires du traitement par immunothérapie (77). Ainsi, en sélectionnant *a posteriori* des patients ayant présenté une réponse pendant au moins 12 mois au nivolumab, certaines de leurs caractéristiques clinico-biologiques pourront être soulignées.

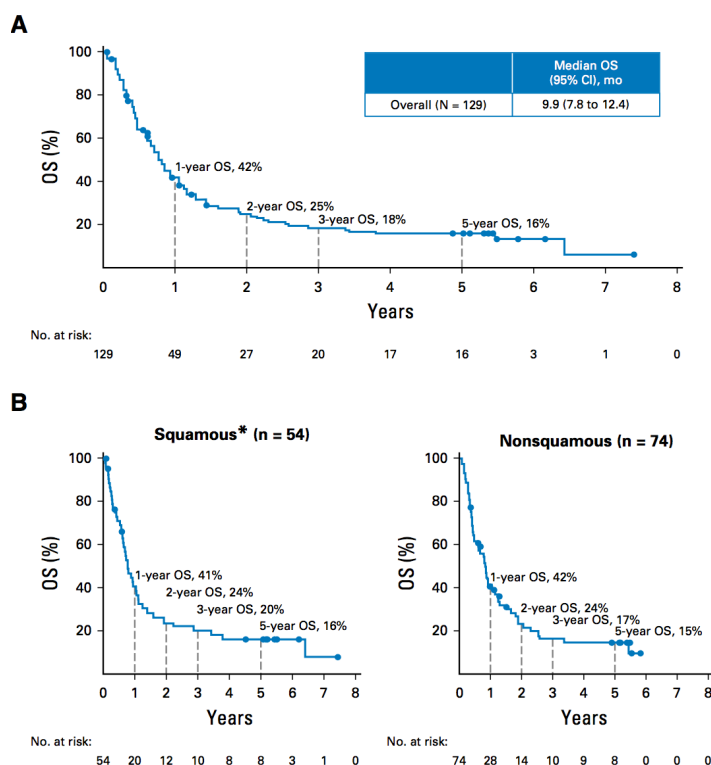


Figure 14 : Survie globale de tous les patients traités (A), en fonction de l'histologie (B), en fonction de la dose reçue (C) et en fonction de l'expression du PD-L1 (D) (77)

II. DEUXIEME PARTIE : ETUDE CLINIQUE

Neutrophil-to-lymphocyte ratio evolution is an independent predictor of early progression of second-line nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancers

Matthieu Dusselier^a, Elise Deluche^b, Nellie Delacourt^a, Julia Ballouhey^a, Thomas Egenod^a, Boris Melloni^a, Charlotte Vergnenègre^c, Rémi Veillon^c, Alain Vergnenègre^a

^a Service de Pneumologie, CHU, Limoges, France.

^b Service d'Oncologie Médicale, CHU, Limoges, France

^c Service de Pneumologie, CHU, Bordeaux, France

Corresponding author: Vergnenegre Alain, Unité d'Oncologie Thoracique, CHU Limoges, 2 Avenue Martin Luther King, 87042 Limoges, FRANCE, tel: +33 5 55 05 68 92, fax : +33 5 55 05 68 15

Email address: alain.vergnenegre@unilim.fr

Abbreviations: i0, just before the 1st infusion (baseline); i4, just before the 4th infusion; Alb, albumin (g/L); ALC, absolute lymphocyte count (Giga/L); ALI, Advanced Lung-cancer Inflammation Index (body mass index × albumin)/NLR; ANC, absolute neutrophil (Giga/L); APC, absolute platelet count (Giga/L); CRP, C-reactive protein (mg/L); NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio (ANC/ALC); dNLR, derived NLR = $ANC_{i0}/(ANC_{i0} - Leu_{i0})$; LDH, lactate dehydrogenase (IU/L); LEU, absolute leukocyte count (Giga/L); LIPI, Lung Immune Prognostic Index, which accords 1 point if the derived NLR >3; and LDH concentration, if

above the upper limit of normal (ULN), 1 point; PLR, platelet-to-lymphocyte ratio (APC/ALC); Δ ALC, $ALC_{i4} - ALC_{i0}$; Δ ANC, $ANC_{i4} - ANC_{i0}$; Δ NLR, $NLR_{i4} - NLR_{i0}$

ABSTRACT

Introduction: Although second-line immunotherapy obtained better outcomes than chemotherapy for patients with advanced non-small-cell lung cancers (NSCLCs), it is expensive and only a minority of patients seem to benefit, based on early tumor progression post-immunotherapy. Notable host inflammation, characterized by biomarkers (e.g. neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR)), prolongs overall survival (OS) of surgery-, chemotherapy- and immunotherapy-treated patients. To our knowledge, no previous studies used biomarker evolution to analyze the immunotherapy impact on host inflammation. Immunotherapy mainly exerts its activity by lymphocyte reactivation.

Methods: This retrospective study was conducted on patients, selected by their progression status just before their 4th nivolumab injection, and treated at Bordeaux and Limoges University Hospitals. A comparative group of at least 1-year responders was also selected. Clinical parameters and hematological data just before the 1st (baseline) and 4th nivolumab infusions were collected to calculate the NLR change (Δ NLR) between those two infusions. The combined impact of the different known prognostic factors was also analyzed with multivariable analyses.

Results: Fifty-nine patients were included. The 29 early progressors had significantly more frequent Δ NLR > 1 ($p = 0.0007$), OR 18.08 [95% CI 2.96–246.24] with progressive disease as best response to prior treatment line ($p = 0.0014$). Δ NLR < 1 prolonged OS (HR 0.001 [0.0007–0.18], $p = 0.001$); as did a partial response to prior line of systemic treatment (HR 0.14 [0.03–0.56], $p = 0.005$).

Conclusion: Based on selected early progressors given second-line immunotherapy for

advanced NSCLC, progression as best response to prior treatment and $\Delta\text{NLR} > 1$ characterized the early progressors and shortened OS after starting nivolumab. This phenomenon questions nivolumab utility in patients with a major host neutrophil inflammation.

Keywords

Non-small-cell lung cancer

Immunotherapy

Neutrophil-to-lymphocyte ratio

Prognostic marker

Highlights

- Biological evolution was analyzed between 1st and 4th nivolumab infusions.
- Early progressors do not benefit from immunotherapy.
- They are characterized by progression as the best response to prior treatment.
- Their neutrophil lymphocyte ratios are significantly higher.
- The neutrophil lymphocyte ratio rise reflects a lymphocyte decline.

1. Introduction

Nivolumab was the first immunotherapy approved by the Food and Drug Administration (FDA) for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) second-line therapy. In France, it was given as compassionate therapy before being approved by French health authorities. Nivolumab, compared to docetaxel, has prolonged overall survival (OS) of patients with squamous [1] and non-squamous NSCLCs [2]. However, in those studies, response rates were only 42% and 19%, respectively. Those responses mean that entire population did not benefit, making it critical to identify biomarkers of patients likely to respond. Nivolumab inhibits programmed cell-death protein-1 (PD-1)–mediated signaling by blocking its ligand (PD-L1) from binding to it [3], thereby preventing reactivation of cytotoxic activity [4] and expansion of clonal T cells recognizing tumor-specific antigens [5].

However, the chronic inflammation induced by tumor development also affects the tumor's growth, dissemination and immunoresistance [6]. Research has focused on immunological biomarkers that might identify and follow the equilibrium between pro-tumor and anti-tumor immunotherapy-caused inflammation. The neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) is defined as the absolute neutrophil count (ANC) divided by the absolute lymphocyte count (ALC). Although many studies showed its interest, their results diverged. Some underlined the impact of $NLR > 3.6$ [7] or > 5 [8] just before the 1st immunotherapy infusion (baseline) on OS and progression-free survival (PFS). Others found no NLR difference from baseline to after 6 weeks of treatment [9,10]. However, because a single ratio only catches a frozen glimpse, it is difficult to extrapolate it to the immune system's perpetual movement. An early NLR decline, between the 1st and 3rd nivolumab infusions, for metastatic renal cell carcinoma patients was associated with better outcomes [11]. A study on 19 highly heterogenous NSCLC patients [12] underlined the influence of an NLR decrease on the time

to treatment failure.

In this novel study, by monitoring the NLR evolution between the 1st and 4th nivolumab infusions, we aimed to determine whether NSCLC patients' inflammation-biomarker evolutions impacted immunotherapy efficacy.

2. Methods

2.1 Patients and data collection

This multicenter retrospective study included 59 patients over 18 years old, receiving second- or third-line nivolumab (3 mg/kg intravenously every 2 weeks), after one or more prior chemotherapies, between June 2015 and April 2018 at Limoges and Bordeaux University Hospitals. Early progressors were defined by radiologic progression according to the Response Evaluation Criteria In Solid Tumors guidelines for immunotherapeutics (iRECIST version 1.1) at the 4th nivolumab infusion [13]. A control group of long-term responders, defined by radiologic response or stabilization under immunotherapy lasting at least 1 year, was also selected. Patients were excluded when 1) they had received first-line immunotherapy, 2) died before the 2nd nivolumab infusion, 3) had a concomitant infection involving an immunodeficiency or autoimmune disorder, 4) were participating in another clinical trial or 5) were under guardian or trusteeship. Electronic medical records and pharmacy databases were screened to obtain patients' specific information. Data collected included: demographics; smoking history; histology; endothelial growth factor-receptor (*EGFR*), anaplastic lymphoma kinase (*ALK*), transmembrane tyrosine-kinase receptor (*ROS1*) and Kirsten rat-sarcoma viral oncogene (*KRAS*) gene mutations, and PD-L1 status, when available; metastatic sites at initial diagnosis; description of previous treatments (numbers of

cycles, time under treatment, best response to previous treatment(s)); number of nivolumab infusions received; response status; date of progression (or last follow-up) as determined by radiology reports; and date of death or last follow-up. Hematological and biochemistry parameters of interest (absolute leukocyte (ALC), neutrophil (ANC) and platelet (APC) counts, albumin (ALB) concentrations enabling calculation of NLR [8], Δ NLR, Δ ANC, Δ ALC, platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) [7], lactate dehydrogenase (LDH), C-reactive protein (CRP) at the 1st and 4th infusions, the advanced lung-cancer inflammation index (ALI; (body mass index \times albumin)/NLR [13] and the Lung Immune Prognostic Index (LIPI) [14]) are defined in Table 1.

The primary endpoint was the response duration to nivolumab. We compared early progressors to long responders. Retained cut-offs were 6 Giga/L for neutrophils (upper limit of normal, ULN), NLR = 5 [7,8], and PLR = 169 and 262 [7]. An exploratory analysis evaluated the impact of Δ NLR on OS, by dividing the population according to a cut-off value of 1 chosen because the NLR standard deviation (SD) was 0.8. The median Δ ANC and Δ ALC were used as the dividing thresholds. OS was defined as the number of months between the 1st nivolumab infusion and death or the last follow-up.

The Ethics Committee of the Limoges University Hospital approved this study (no. 285-2018-51) and informed consent was not required because of the retrospective character of the study.

2.2 Statistical analyses

All collected data were analyzed using Statview® software (SAS Institute, Inc., Cary, NC) and R software. Quantitative results are expressed as median (range) or mean \pm SD and qualitative results as n (%). Nominal variables were compared between groups using the chi-

square or Fisher's exact test, as appropriate. Means were compared with the non-parametric Mann–Whitney *U*-test for continuous variables. Univariate analyses identified variables associated with therapeutic response ($p \leq 0.2$) that were then entered into multivariate logistic-regression models. The Kaplan–Meier method was applied to evaluate the OS probability. Median OS rates were compared with the non-parametric log-rank test. Multivariate Cox regression analyses of the variables achieving $p < 0.20$ in univariate analyses were used to assess nivolumab impact on OS. For all analyses, $p < 0.05$ defined significance.

3. Results

3.1 Baseline characteristics

The clinical characteristics of the 59 patients are reported in Table 2. Early progressors received a median (range) of 3 infusions during 1.3 (0.5–1.8) months vs 35 (23–47) infusion during 18 (12–33) months for the long responders. Early progressors' median age was significantly older. The vast majority of the patients (90%) had an Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG PS) of 0/1 vs ≥ 2 for the remaining 10%. Early progressors had predominantly (65%) non-squamous NSCLCs, vs 94% for long responders ($p = 0.01$). PD-L1 testing rates were comparable for the 2 groups. Early progressors had significantly higher percentages of bone metastases ($p = 0.01$) and progressive disease ($p = 0.001$), with significantly shorter times to disease progression on previous treatment lines ($p = 0.04$).

3.2 Immunological biomarkers

Biomarker results at baseline and the 4th nivolumab infusions are given in Table 3. Baseline blood counts and NLR_{i0} , PLR_{i0} , $LIPI_{i0}$, and ALI_{i0} were comparable for the 2 groups. Almost equal numbers of long responders (11 patients, 52.2%) and early progressors (10 patients, 47.5%) had $NLR_{i0} > 5$. However, at the 4th infusion, early progressors were characterized by significantly higher ANC, and CRP and LDH concentrations, more frequent $NLR_{i4} > 5$ and higher LIPI scores. In addition, $\Delta NLR < 1$ differed significantly between the 2 groups (in univariate ($p = 0.001$) and multivariate ($p = 0.0007$) analyses). Closer examination of the 2 variables comprising the ΔNLR showed that ΔALC values differed significantly but not ΔANC .

3.3 Exploratory analyses of OS

Results of univariate and multivariate analyses of variables associated with OS are reported in Table 4. Among the parameters considered, univariate analyses selected only non-squamous histology as being associated with longer OS. $NLR_{i0} > 5$, $PLR_{i0} > 262$ and $PLR_{i4} > 262$ had no impact on OS, but $NLR_{i4} > 5$ did (hazard ratio (HR) 0.41 (95% CI 0.19–0.90), $p = 0.03$) (Fig. 1). The multivariate model included histology, first-line–therapy characteristics (number of cycles, duration, best response) and ΔNLR . Three factors significantly impacted the OS prognosis: non-squamous histology, partial response to first-line systemic therapy, which directly reflects the number of first-line–therapy cycles, and $\Delta NLR < 1$. At the 4th infusion, $ANC > 6$ differed significantly but not $\Delta ANC > -0.3$. However, $\Delta ALC > 0.1$ was associated with significantly prolonged OS.

Median OS for early progressors lasted 3.1 months but was not reached for long responders (Fig. A1). For respective subgroup analyses, for $\Delta NLR > 1$, OS lasted 4.6 months

vs 29.9 months (Fig. A2); for $NLR_{i0} > 5$, it lasted 7.4 months vs 29.9 months (Fig. A3); and for $NLR_{i4} > 5$, OS lasted 3.6 months vs not reached (Fig. A4).

4. Discussion

According to this novel analysis of 59 second-or-more-line nivolumab-treated NSCLC patients, NLR kinetics between the 1st and 4th infusions differed significantly between early progressors and long responders. Our results retained a significant increase of $\Delta NLR < 1$ as an independent prognostic factor, regardless of its baseline level. Moreover, they also demonstrated that a partial response to the treatment line preceding nivolumab was also associated with prolonged OS in response to the latter.

Nevertheless, we recognize some limitations of this study. First, this analysis of a moderately sized progressing population was retrospective, which carries the potential for selection bias and confounders. We attempted to contain those possible weaknesses by including only patients given nivolumab (to minimize the subtle differences among the different anti-PD-1 immunotherapies). Second, the sample size is small, which can explain some results or wide confidence intervals. Third, PD-L1 status was available for only a minority of the patients included (NSCLC PD-L1 expression was not yet sought in France when these patients were treated) but the percentages were similar into the 2 groups; no further analyses could be undertaken in this study. We also adjusted our multivariable analysis to prognostic variables, because we could not control for concomitant medications that might have influenced white blood cell counts. Fourth, unlike previously reported findings [1,2], the histology-type impact on OS mainly reflects the initial selection of more non-squamous cell NSCLCs enrolled in the long responders group. Because by definition long responders lived longer, that significantly different baseline characteristic for the 2

groups unsurprisingly affected the exploratory analysis of OS.

As emphasized in a previous study published on metastatic renal cell carcinoma patients [11], a significant increase of NLR $> 25\%$ between baseline and 6 weeks after starting immunotherapy was an independent factor predictive of shorter OS. The study published on 19 NSCLC patients [12] only reported an association between an NLR increase $>30\%$ between the 1st and 2nd ($p = 0.014$), and 2nd and 3rd immunotherapy infusions ($p < 0.001$) and shorter times to treatment failures; no association was found between NLR evolution and OS or PFS. Other than the smaller number and the older age of the patients that they included, the majority had recurrent or stage-III NSCLCs and received immunotherapy later during their care (3rd-or-more treatment line).

The first studies to demonstrate a clear association between NLR and OS focused on NLR at baseline [7,8] and 6 weeks [9]. The former two studies retained a cut-off threshold of ≥ 5 but they respectively divided them into tertiles or quartiles, yielding other possible cut-off options. Those results were counterbalanced by the study highlighting the importance of NLR at 6 weeks [9], in which no associations between OS and baseline NLR were identified. Our similar population in terms of ECOG PS and previous treatment lines, our median OS of 3.6 months for $NLR_{i4} > 5$ was close to the 2.1 months previously reported [9].

Our selected population had many characteristics in common with the patients enrolled in phase-III trials that led to nivolumab approval for NSCLC treatment [1,2]: median age of 59.5 years compared to 62 years, a small minority of patients with ECOG PS > 2 (10% vs none) and about the same percentage of patients with ≥ 2 prior treatment lines (17% vs 12%).

Furthermore, the response to first-line chemotherapy before nivolumab had also been described previously for melanoma [15] and NSCLC [7,16–18]. Those responses could be caused by antigens released after tumor-cell death that would stimulate the immune T-cell response and enhance the immunotherapy mechanism of action [19–21]. We included all the

previously identified clinical parameters in our multivariate analyses and they remained significant.

Previous studies on NSCLC patients treated with surgery, chemoradiotherapy or chemotherapy alone showed that a high NLR is an independent factor predictive of shorter OS and poorer PFS [22–25]. This phenomenon could be explained by an antigen-driven immune response with one or more suppressive factors [26] within the tumor microenvironment, which would lead to an immune dysfunction. The immunosuppressive tumor cells in the microenvironment, such as myeloid-derived suppressor cells or tumor-associated neutrophils [6], might be involved. Those cell types showed characteristics close to those of circulating neutrophils [27], and their influence on lymphocytes [28,29] and tumor growth [30] has been proven.

Concerning the particular NSCLC immune landscape, a recent publication [31] found a predominance of neutrophils. However, we had comparable numbers of patients in each group with $NLR_{i0} > 5$. Moreover, we found a significantly higher ANC_{i4} , but the $\Delta ALC > -0.3$ had no impact on OS. The evolution of $\Delta ALC > 0.1$ differed statistically between our 2 study groups. Overall, a high pretreatment ANC, previously described by Bagley et al [8], and at the 4th infusion in our study, was associated with shorter OS, without evolving notably over time. As stated above, $\Delta ALC > 0.1$ after starting nivolumab was associated with longer OS. That finding led us to wonder whether nivolumab would still be able to overcome an immune response once dominated by neutrophils and how to determine the optimal threshold of where nivolumab could be effective: can baseline NLR adequately define the immune response and predict the response to nivolumab, or would ΔNLR better characterize each patient and be more accurately establish the cut-off?

Future prospective studies on larger populations comparing these two approaches are warranted. Because nivolumab does not seem to be effective in patients with high

inflammatory (neutrophil) status, further prospective studies concerning this specific population should also be conducted to clarify the treatment algorithm. For example, comparing nivolumab versus classical chemotherapy, like paclitaxel, for progressing patients with significantly elevated NLR between the 1st and 4th nivolumab infusions could be informative.

5. Conclusion

The results of this original study comparing only early progressor to long responder NSCLC patients demonstrated the importance of Δ NLR as an independent factor prognostic of OS. Early progressors were characterized by Δ NLR > 1 and progression as the best response to prior treatment line. NLR evolution was also shown to have an independent influence on OS. An increasing body of evidence seems to underline the central role of neutrophils in tumor aggressiveness and the inability of nivolumab to stop and overturn neutrophils' pro-tumor action. Further studies on larger patient populations are needed to clarify the potential use of inflammatory biomarker evolution before and under immunotherapy as predictive and prognostic indicators of outcome.

Conflicts of interest

None

Acknowledgements

We acknowledge Sophie Léobon for the help on the statistical analysis.

Funding

None

References

- [1] J. Brahmer, K.L. Reckamp, P. Baas, L. Crinò, W.E.E. Eberhardt, E. Poddubskaya, S. Antonia, A. Pluzanski, E.E. Vokes, E. Holgado, D. Waterhouse, N. Ready, J. Gainor, O.A. Frontera, L. Havel, M. Steins, M.C. Garassino, J.G. Aerts, M. Domine, L. Paz-Ares, M. Reck, C. Baudalet, C.T. Harbison, B. Lestini, D.R. Spigel, Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer, *N. Engl. J. Med.* 373 (2015) 123–135. doi:10.1056/NEJMoa1504627.
- [2] H. Borghaei, L. Paz-Ares, L. Horn, D.R. Spigel, M. Steins, N.E. Ready, L.Q. Chow, E.E. Vokes, E. Felip, E. Holgado, F. Barlesi, M. Kohlhäufel, O. Arrieta, M.A. Burgio, J. Fayette, H. Lena, E. Poddubskaya, D.E. Gerber, S.N. Gettinger, C.M. Rudin, N. Rizvi, L. Crinò, G.R. Blumenschein, S.J. Antonia, C. Dorange, C.T. Harbison, F. Graf Finckenstein, J.R. Brahmer, Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer, *N. Engl. J. Med.* 373 (2015) 1627–1639. doi:10.1056/NEJMoa1507643.
- [3] J.L. Messerschmidt, G.C. Prendergast, G.L. Messerschmidt, How Cancers Escape Immune Destruction and Mechanisms of Action for the New Significantly Active Immune Therapies: Helping Nonimmunologists Decipher Recent Advances, *The Oncologist.* 21 (2016) 233–243. doi:10.1634/theoncologist.2015-0282.
- [4] K.C. Ohaegbulam, A. Assal, E. Lazar-Molnar, Y. Yao, X. Zang, Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway, *Trends Mol. Med.* 21 (2015) 24–33. doi:10.1016/j.molmed.2014.10.009.
- [5] P.C. Tumeh, C.L. Harview, J.H. Yearley, I.P. Shintaku, E.J.M. Taylor, L. Robert, B. Chmielowski, M. Spasic, G. Henry, V. Ciobanu, A.N. West, M. Carmona, C. Kivork, E. Seja, G. Cherry, A.J. Gutierrez, T.R. Grogan, C. Mateus, G. Tomasic, J.A. Glaspy, R.O. Emerson, H. Robins, R.H. Pierce, D.A. Elashoff, C. Robert, A. Ribas, PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance, *Nature.* 515 (2014) 568–571. doi:10.1038/nature13954.
- [6] M.E. Shaul, Z.G. Fridlender, Cancer related circulating and tumor-associated neutrophils - subtypes, sources and function, *FEBS J.* (2018). doi:10.1111/febs.14524.
- [7] S. Diem, S. Schmid, M. Krapf, L. Flatz, D. Born, W. Jochum, A.J. Templeton, M. Früh, Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab, *Lung Cancer Amst. Neth.* 111 (2017) 176–181. doi:10.1016/j.lungcan.2017.07.024.
- [8] S.J. Bagley, S. Kothari, C. Aggarwal, J.M. Bauml, E.W. Alley, T.L. Evans, J.A. Kosteva, C.A. Ciunci, P.E. Gabriel, J.C. Thompson, S. Stonehouse-Lee, V.E. Sherry, E. Gilbert, B. Eaby-Sandy, F. Mutale, G. DiLullo, R.B. Cohen, A. Vachani, C.J. Langer, Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer, *Lung Cancer Amst. Neth.* 106 (2017) 1–7. doi:10.1016/j.lungcan.2017.01.013.
- [9] K.J. Suh, S.H. Kim, Y.J. Kim, M. Kim, B. Keam, T.M. Kim, D.-W. Kim, D.S. Heo, J.S. Lee, Post-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio at week 6 is prognostic in patients with advanced non-small cell lung cancers treated with anti-PD-1 antibody, *Cancer Immunol. Immunother. CII.* (2017). doi:10.1007/s00262-017-2092-x.
- [10] K. Parikh, A. Kumar, J. Ahmed, A. Anwar, C. Puccio, H. Chun, M. Fanucchi, S.H. Lim, Peripheral monocytes and neutrophils predict response to immune checkpoint inhibitors in patients with metastatic non-small cell lung cancer, *Cancer Immunol. Immunother. CII.* (2018). doi:10.1007/s00262-018-2192-2.

- [11] A.-K.A. Lalani, W. Xie, D.J. Martini, J.A. Steinharter, C.K. Norton, K.M. Krajewski, A. Duquette, D. Bossé, J. Bellmunt, E.M. Van Allen, B.A. McGregor, C.J. Creighton, L.C. Harshman, T.K. Choueiri, Change in Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in response to immune checkpoint blockade for metastatic renal cell carcinoma, *J. Immunother. Cancer*. 6 (2018) 5. doi:10.1186/s40425-018-0315-0.
- [12] T. Kiriū, M. Yamamoto, T. Nagano, D. Hazama, R. Sekiya, M. Katsurada, D. Tamura, M. Tachihara, K. Kobayashi, Y. Nishimura, The time-series behavior of neutrophil-to-lymphocyte ratio is useful as a predictive marker in non-small cell lung cancer, *PLOS ONE*. 13 (2018) e0193018. doi:10.1371/journal.pone.0193018.
- [13] T. Shiroyama, H. Suzuki, M. Tamiya, A. Tamiya, A. Tanaka, N. Okamoto, K. Nakahama, Y. Taniguchi, S.-I. Isa, T. Inoue, F. Imamura, S. Atagi, T. Hirashima, Pretreatment advanced lung cancer inflammation index (ALI) for predicting early progression in nivolumab-treated patients with advanced non-small cell lung cancer, *Cancer Med*. 7 (2018) 13–20. doi:10.1002/cam4.1234.
- [14] L. Mezquita, E. Auclin, R. Ferrara, M. Charrier, J. Remon, D. Planchard, S. Ponce, L.P. Ares, L. Leroy, C. Audigier-Valette, E. Felip, J. Zerón-Medina, P. Garrido, S. Brosseau, G. Zalcman, J. Mazieres, C. Caramela, J. Lahmar, J. Adam, N. Chaput, J.C. Soria, B. Besse, Association of the Lung Immune Prognostic Index With Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer, *JAMA Oncol*. 4 (2018) 351–357. doi:10.1001/jamaoncol.2017.4771.
- [15] V. Heidelberger, F. Goldwasser, N. Kramkimel, A. Jouinot, N. Franck, J. Arrondeau, S. Guégan, A. Mansuet-Lupo, J. Alexandre, D. Damotte, M.-F. Avril, N. Dupin, S. Aractingi, Clinical parameters associated with anti-programmed death-1 (PD-1) inhibitors-induced tumor response in melanoma patients, *Invest. New Drugs*. 35 (2017) 842–847. doi:10.1007/s10637-017-0476-6.
- [16] F. Facchinetti, M. Veneziani, S. Buti, F. Gelsomino, A. Squadrilli, P. Bordi, M. Bersanelli, A. Cosenza, L. Ferri, E. Rapacchi, G. Mazzaschi, F. Leonardi, F. Quaini, A. Ardizzoni, G. Missale, M. Tiseo, Clinical and hematologic parameters address the outcomes of non-small-cell lung cancer patients treated with nivolumab, *Immunotherapy*. 10 (2018) 681–694. doi:10.2217/imt-2017-0175.
- [17] H. Kobayashi, S. Omori, K. Nakashima, K. Wakuda, A. Ono, H. Kenmotsu, T. Naito, H. Murakami, M. Endo, T. Takahashi, Response to the treatment immediately before nivolumab monotherapy may predict clinical response to nivolumab in patients with non-small cell lung cancer, *Int. J. Clin. Oncol*. 22 (2017) 690–697. doi:10.1007/s10147-017-1118-x.
- [18] J. Garde-Noguera, P. Martin-Martorell, M. De Julián, J. Perez-Altozano, C. Salvador-Coloma, J. García-Sánchez, A. Insa-Molla, M. Martín, X. Mielgo-Rubio, S. Marin-Liebana, A. Blasco-Cordellat, S. Blasco-Molla, R. Gironés, D. Marquez-Medina, F. Aparisi, M.C.B. Cerda, S. Macia-Escalante, A. Sánchez, O. Juan-Vidal, Predictive and prognostic clinical and pathological factors of nivolumab efficacy in non-small-cell lung cancer patients, *Clin. Transl. Oncol. Off. Publ. Fed. Span. Oncol. Soc. Natl. Cancer Inst. Mex*. 20 (2018) 1072–1079. doi:10.1007/s12094-017-1829-5.
- [19] L.A. Emens, G. Middleton, The interplay of immunotherapy and chemotherapy: harnessing potential synergies, *Cancer Immunol. Res*. 3 (2015) 436–443. doi:10.1158/2326-6066.CIR-15-0064.
- [20] M. Obeid, T. Panaretakis, A. Tesniere, N. Joza, R. Tufi, L. Apetoh, F. Ghiringhelli, L. Zitvogel, G. Kroemer, Leveraging the immune system during chemotherapy: moving calreticulin to the cell surface converts apoptotic death from “silent” to immunogenic, *Cancer Res*. 67 (2007) 7941–7944. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1622.

- [21] L. Zitvogel, O. Kepp, G. Kroemer, Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 8 (2011) 151–160. doi:10.1038/nrclinonc.2010.223.
- [22] B.A. Derman, J.N. Macklis, M.S. Azeem, S. Sayidine, S. Basu, M. Batus, F. Esmail, J.A. Borgia, P. Bonomi, M.J. Fidler, Relationships between longitudinal neutrophil to lymphocyte ratios, body weight changes, and overall survival in patients with non-small cell lung cancer, *BMC Cancer.* 17 (2017) 141. doi:10.1186/s12885-017-3122-y.
- [23] B. Peng, Y.-H. Wang, Y.-M. Liu, L.-X. Ma, Prognostic significance of the neutrophil to lymphocyte ratio in patients with non-small cell lung cancer: a systemic review and meta-analysis, (n.d.) 9.
- [24] K.A. Scilla, S.M. Bentzen, V.K. Lam, P. Mohindra, E.M. Nichols, M.A. Vyfhuis, N. Bhooshan, S.J. Feigenberg, M.J. Edelman, J.L. Feliciano, Neutrophil-Lymphocyte Ratio Is a Prognostic Marker in Patients with Locally Advanced (Stage IIIA and IIIB) Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Combined Modality Therapy, *The Oncologist.* 22 (2017) 737–742. doi:10.1634/theoncologist.2016-0443.
- [25] Q.-T. Zhao, Y. Yang, S. Xu, X.-P. Zhang, H.-E. Wang, H. Zhang, Z.-K. Wang, Z. Yuan, G.-C. Duan, Prognostic role of neutrophil to lymphocyte ratio in lung cancers: a meta-analysis including 7,054 patients, *OncoTargets Ther.* 8 (2015) 2731–2738. doi:10.2147/OTT.S90875.
- [26] K.E. de Visser, A. Eichten, L.M. Coussens, Paradoxical roles of the immune system during cancer development, *Nat. Rev. Cancer.* 6 (2006) 24–37. doi:10.1038/nrc1782.
- [27] S. Brandau, K. Moses, S. Lang, The kinship of neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells in cancer: Cousins, siblings or twins?, *Semin. Cancer Biol.* 23 (2013) 171–182. doi:10.1016/j.semcancer.2013.02.007.
- [28] T. Lu, R. Ramakrishnan, S. Altiok, J.-I. Youn, P. Cheng, E. Celis, V. Pisarev, S. Sherman, M.B. Sporn, D. Gabrilovich, Tumor-infiltrating myeloid cells induce tumor cell resistance to cytotoxic T cells in mice, *J. Clin. Invest.* 121 (2011) 4015–4029. doi:10.1172/JCI45862.
- [29] H.H. Yan, M. Pickup, Y. Pang, A.E. Gorska, Z. Li, A. Chytil, Y. Geng, J.W. Gray, H.L. Moses, L. Yang, Gr-1+CD11b+ myeloid cells tip the balance of immune protection to tumor promotion in the premetastatic lung, *Cancer Res.* 70 (2010) 6139–6149. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-0706.
- [30] T.L. Whiteside, The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth, *Oncogene.* 27 (2008) 5904–5912. doi:10.1038/onc.2008.271.
- [31] J. Kargl, S.E. Busch, G.H.Y. Yang, K.-H. Kim, M.L. Hanke, H.E. Metz, J.J. Hubbard, S.M. Lee, D.K. Madtes, M.W. McIntosh, A.M. Houghton, Neutrophils dominate the immune cell composition in non-small cell lung cancer, *Nat. Commun.* 8 (2017) 14381. doi:10.1038/ncomms14381.

Table 1

Abbreviations

Abbreviation	Definition
i0	Just before the 1 st nivolumab infusion, i.e., baseline
i4	Just before the 4 th nivolumab infusion
Alb	Albumin (g/L)
ALC	Absolute lymphocyte count (Giga/L)
ALI	Advanced Lung-cancer Inflammation Index = (body mass index × Alb)/NLR [13]
ANC	Absolute neutrophil count (Giga/L)
APC	Absolute platelet count (Giga/L)
CRP	C-reactive protein (mg/L)
LDH	Lactate dehydrogenase (IU/L)
Leu	Absolute leukocyte count (Giga/L)
LIPI	Lung Immune Prognostic Index, which accords 1 point if the derived $NLR_{i0} [ANC_{i0}/(ANC_{i0} - Leu_{i0})] > 3$
NLR	Neutrophil lymphocyte ratio = ANC_{i0}/ALC_{i0}
PLR	Platelet-to-lymphocyte ratio = $APC_{i0/i4}/ALC_{i0/i4}$
ΔNLR	$NLR_{i4} - NLR_{i0}$
ΔANC	$ANC_{i4} - ANC_{i0}$
ΔALC	$ALC_{i4} - ALC_{i0}$

Table 2
Baseline Clinical Characteristics of NSCLC Patients Receiving Nivolumab as Second-or-More-Line Therapy

Characteristic	General population N = 59	Early progressors N = 29	Long responders N = 30	Univariate p
Age (years), median (range)	59.5 (30.3–87.3)	65.4 (37.8–87.3)	56.8 (30.3–77.8)	0.06
Sex				0.24
Men, n (%)	44 (75)	23 (79)	21 (70)	
Women, n (%)	15 (25)	5 (17)	10 (33)	
Tobacco consumption (packs-year), mean (\pm SD)	37.4 \pm 16.9	39.1 \pm 14.1	36.3 \pm 18.6	0.26
Weight (kg), median (range)	67 (43–110)	71.5 (51–110)	62 (43–95)	0.01
Body mass index (kg/m ²), median (range)	23.3 (14.9–34.3)	25.3 (17.7–34)	22.2 (14.9–34.3)	0.01
ECOG PS, n (%)				0.71
0	28 (57)	14 (48)	14 (47)	
1	25 (42)	13 (45)	12 (40)	
2	6 (10)	2 (7)	4 (13)	
Histology, n (%)				0.01
Non-squamous	47 (80)	20 (69)	27 (90)	
Squamous	12 (20)	9 (31)	3 (10)	
PD-L1 tested				0.37
No, n (%)	45 (76)	23 (79)	22 (73)	
Yes, n (%)	14 (24)	5 (17)	9 (30)	
% PD-L1 expression, median (range)	20 (0–80)	1 (0–20)	50 (1–80)	0.16
Metastatic sites				
Brain, n (%)	8 (14)	4 (14)	4 (13)	0.99
Lung, n (%)	32 (54)	14 (48)	18 (60)	0.4
Liver, n (%)	14 (24)	10 (34)	4 (13)	0.06
Adrenal gland, n (%)	7 (12)	2 (7)	5 (19/17)	0.42
Bone, n (%)	9 (15)	8 (28)	1 (3)	0.01
Pleura, n (%)	6 (10)	3 (10)	3 (10)	0.9
Prior systemic therapy, n (%)				0.57
1	49 (83)	25 (86)	24 (80)	
2	9 (15)	5 (17)	4 (13)	
\geq 3	1 (2)	0	1 (3)	
Platinum-based chemotherapy, n (%)	58 (98)	27 (93)	30(100)	0.47
No. of 1st-line cycles, median (range)	5 (1–23)	4.5 (2–14)	5 (1–23)	0.02
Months on 1st-line systemic therapy mean (\pmSD)	167 \pm 163	115 \pm 105	214 \pm 192	0.04
Best response to 1st-line therapy, n (%)				0.001
Partial response	22 (37)	6 (21)	16 (53)	
Stability	16 (27)	7 (24)	9 (30)	
Progression	21 (36)	15 (52)	6 (20)	
Nivolumab infusions, median n (range)	20 (2–47)	3 (2–4)	35 (23–47)	<0.0001
Months of nivolumab treatment, median (range)	11 (0.5–33)	1.3 (0.5–1.8)	18 (12–33)	<0.0001

SD, standard deviation; n, number; ECOG-PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status

Table 3
NSCLC patients' biomarker values at the 2 times of interest.

Marker	General population N = 59	Early progressors N = 29	Long responders N = 30	Univariate p	Multivariate p
Just before the 1st infusion (baseline)					
Leu (Giga/L)	8.1 (2.9–30.8)	8.36 (3.1–17.67)	7.97 (2.93–30.8)	0.43	
ANC (Giga/L)	5.4 (0.7–28)	5.9 (0.69–13.94)	4.82 (1–28)	0.22	
ALC (Giga/L)	1.6 (0.3–3.3)	1.71 (0.45–2.56)	1.56 (0.29–3.34)	0.92	
APC (Giga/L)	298 (66–617)	288 (66–617)	309 (100–500)	0.57	
Albumin (g/L)	36.4 (20.8–49.9)	36 (23–49)	36 (20–44)	0.63	
CRP (mg/L)	23.5 (1–394)	27.5 (1–394)	20.5 (1–223)	0.73	
LDH (IU/L),	391 (174–679)	384 (285–597)	428 (174–679)	0.64	
NLR, n (%)					
<5	21 (36.2)	17 (59)	20 (67)	0.5	
>5	37 (63)	11 (38)	10 (33)		
PLR, n (%)					
<169	19 (32)	9 (31)	10 (33)	0.3	
169–262	31 (53)	17 (59)	14 (47)		
>262	8 (14)	2 (3)	6 (20)		
LIPI, n of patients (%)					
No. of data collected	16 (27)	9 (31)	7 (23)	0.81	
0, good	4 (25)	3 (33)	1 (14)	0.53	
1, intermediate	9 (56)	5 (56)	4 (57)		
2, poor	3 (19)	1 (11)	2 (29)		
ALI, n (%)					
<18	20 (34)	9 (31)	11 (37)	0.86	
>18	33 (56)	17 (59)	16 (53)		
Just before the 4th infusion					
Leu (Giga/L), median (range)	5 (2.7–25.1)	9.77 (4.69–25.58)	7.1 (2.7–25.1)	0.0005	
ANC (Giga/L), median (range)	5 (1.7–23.7)	7 (2.94–23.69)	3.88 (1.7–7)	<0.0001	
ALC (Giga/L), median (range)	1.7 (0.4–3.7)	1.69 (0.43–3)	1.77 (0.37–3.59)	0.29	
APC (Giga/L), n, (%) median (range)	284 (105–490)	314 (123–490)	261 (105–471)	0.19	
Albumin (g/L), median (range)	36.7 (14–48.1)	32.95 (14–48)	37.65 (27–44)	0.05	
CRP (mg/L), median (range)	22 (1–203)	46 (1–203)	13 (1–99)	0.003	
LDH (IU/L), median (range)	354 (170–758)	413 (196–758)	325 (170–441)	0.04	
NLR n, (%)					
<5	39 (66)	13 (45)	26 (87)	0.005	
>5	19 (32)	14 (48)	5 (17)		
PLR n, (%)					
<169	26 (44)	10 (34)	16 (53)	0.37	
169–262	21 (36)	10 (34)	11 (37)		
>262	11 (19)	7 (24)	4 (13)		
LIPI n, (%)					
Data collected	20 (33/34)	11 (38)	9 (30)		
0, good	7 (35)	1 (9)	6 (67)	0.01	
1, intermediate	9 (45)	6 (55)	3 (33)		
2, poor	4 (20)	4 (36)	0		

ALI n, (%)					
<18	18 (31)	5 (17)	13 (43)	0.07	
>18	34 (58)	20 (69)	14 (47)		
Evolution					
ΔNLR, median (range)	-0.18 (-17.68--+14.99)	0.65 (-13.24--+14.99)	-0.73 (-17.68--+2.91)	0.01	
ΔNLR < 1, n (%)	43 (73)	15 (52)	28 (93)	0.001	0.0007
ΔNLR > 1, n (%)	14 (24)	12 (41)	2 (7)		
ΔANC (Giga/L), mean (±SD)	-0.3 ± 5	1.3 ± 4.8	-1.7 ± 4.9	0.07	
ΔALC (Giga/L) average(±SD)	0.1 ± 0.7	-0.024 ± 0.7	0.2 ± 0.6	0.02	
ΔPLR, median (range)	2.27 (-310--+395)	16.44 (-222--+395)	-23.44 (-310--+145)	0.008	

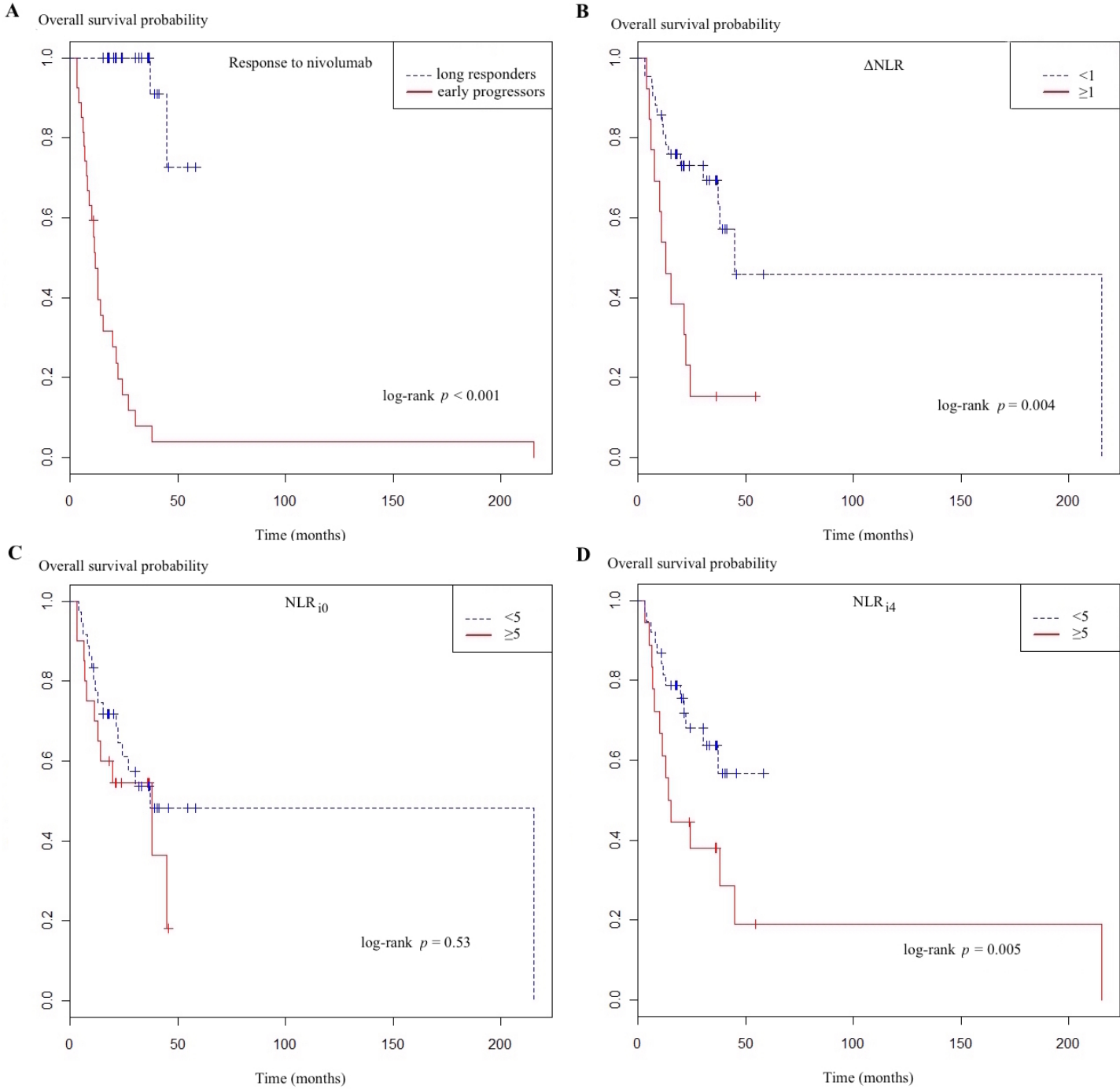
Abbreviations: Leu, leukocytes; ANC, absolute neutrophil count; ALC, absolute lymphocyte count; APC, absolute platelet count; CRP, C-reactive protein; NLR, neutrophil-to-lymphocytes ratio; PLR, platelet-to-lymphocyte ratio; LIPI, Lung Immune Prognostic Index; ALI, Advanced Lung-cancer Inflammation Index

Table 4
Univariate and multivariate analysis of overall survival

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	p value	HR	95% CI	p value
Male sex	1.83	(0.69–4.85)	0.22			
Age: >50 years	1.35	(0.51–3.58)	0.54	2.25	(0.5–10.04)	0.29
Smoking history: ≤30 pack-years	0.51	(0.16–1.56)	0.24			
ECOG-PS: 2	1.17	(0.40–3.41)	0.76			
Histology: non-squamous	0.4	(0.2–0.8)	0.01	0.19	(0.04–0.77)	0.01
PD-L1: not tested	1.77	(0.61–5.12)	0.29			
Radiotherapy: yes	1.12	(0.51–2.43)	0.78			
No. of 1st-line therapy cycles	0.88	(0.80–0.97)	0.01	0.74	(0.58–0.95)	0.01
Time on 1st-line therapy	0.996	(0.99–0.99)	0.002			
Partial response to first-line therapy	0.3	(0.12–0.75)	0.02	0.14	(0.03–0.56)	0.005
Just before the 1st infusion (baseline)						
NLR > 5	0.69	(0.32–1.94)	0.35			
PLR > 262	0.68	(0.27–1.70)	0.41			
Just before the 4th infusion						
ANC > 6 (Giga/L)	6.11	(2.6–14.18)	<0,001			
ALC > 1.5 (Giga/L)	0.99	(0.61–1.63)	0.99			
NLR > 5	0.41	(0.19–0.90)	0.03			
PLR > 262	0.87	(0.38–2)	0.74			
Evolution						
ΔNLR < 1	0.29	(0.13–0.63)	0.001	0.12	(0.03–0.46)	0.001
ΔANC > -0.3	1.468	(0.68–3.14)	0.32			
ΔALC > 0.1	0.4	(0.17–0.91)	0.03			

Abbreviations: ECOG-PS: Eastern Cooperative Oncology Group Performance Score, NLR: neutrophil-to-lymphocyte ratio, PLR: platelet-to-lymphocyte ratio, ANC: absolute neutrophil count, ALC: absolute lymphocyte count, ΔNLR: $NLR_{i4} - NLR_{i0}$, ΔANC: $ANC_{i4} - ANC_{i0}$, ΔALC: $ALC_{i4} - ALC_{i0}$

Fig. 15. Overall survival probability according to the response to nivolumab, NLR, neutrophil-to-lymphocytes ratio; i_0/i_4 , just before the 1st/4th nivolumab infusion; $\Delta\text{NLR} = \text{NLR}_{i_4} - \text{NLR}_{i_0}$, i.e., NLR change between the 1st and 4th nivolumab infusions



III. TROISIEME PARTIE : DISCUSSION, RESULTATS COMPLEMENTAIRES, LIMITES ET PERSPECTIVES

III.1. Marqueurs cliniques

III.1.1. Statut tabagique

Ni le statut tabagique ($p=0.99$), ni la quantité de tabac ($p=0.26$) n'ont constitué de résultats intéressants au cours de cette étude. Cependant, les précédentes études avaient démontré l'effet du tabac sur certaines mutations (52) entraînant une augmentation du TMB. Au cours de notre étude, aucun des patients inclus n'avaient bénéficié de cette recherche génétique avec calcul de ce score.

III.1.2. Radiothérapie

Le nombre de patients ayant reçu un traitement par radiothérapie était sensiblement le même dans les 2 groupes : 11 patients (36%) dans le groupe répondeurs contre 10 (34%) dans le groupe des progressseurs. L'effet abscopal décrit dans certaines études (63,64) n'a pu être démontré dans la nôtre.

III.1.3. Durée sous 1^{ère} ligne de traitement

Les résultats de cette étude sont en accord avec celles précédemment publiées sur ce sujet (6,59,62) : la réponse au traitement précédent la mise sous immunothérapie influence la réponse à l'immunothérapie. Cependant, avec la population pré-sélectionnée par notre étude, il s'agit de la première étude permettant de souligner l'impact sur la survie globale (HR=0.14, IC₉₅(0,03-0,56), $p=0.005$), les études précédentes ayant uniquement souligné l'impact sur la réponse à l'immunothérapie. Aucune étude ne s'est cependant intéressée précisément aux nombres de cycles reçus en 1^{ère} ligne dans le cancer du poumon, mais cette donnée est directement liée à la réponse.

Ce phénomène est expliqué par plusieurs mécanismes. Le premier, immunologique, serait lié au fait qu'une chimiothérapie efficace entraînerait nécessairement une destruction de cellules cancéreuses, conduisant à un relargage antigénique pouvant stimuler et donc réactiver le système immunitaire (78,79). Une autre explication est aussi avancée. Elle concerne l'agressivité de la tumeur. Ce phénomène a été mis en avant dans les mélanomes, qui présentent des taux de réponse similaire aux immunothérapies dans les populations de patient ayant répondu à la ligne de traitement précédant le nivolumab. L'agressivité est définie par la durée entre le diagnostic et la mise sous immunothérapie. Plus le délai entre le diagnostic et la mise sous immunothérapie est long, mieux les patients répondent à l'immunothérapie, soulignant le fait qu'une immunothérapie est plus efficace sur les tumeurs moins agressives (59,80,81).

III.2. Marqueurs biologiques

III.2.1. PNN

Dans notre étude, nous avons mis en avant l'intérêt de PNN_{i4}. Le taux de PNN avait précédemment été mis en avant, si son taux était supérieur à 7,2, dans l'étude de Bagley et al (7), avec un impact péjoratif sur la PFS et l'OS. Aucune autre étude portant sur le cancer du poumon ne s'est intéressée à l'évolution des seuls PNN à distance de la mise sous

immunothérapie. Cette donnée n'a pu être analysée séparément en analyse multivariée dans notre travail car faisant partie du calcul du NLR.

III.2.2. PLR

L'analyse du ratio PLR n'a, quant à lui, pas montré de différence statistiquement significative entre les deux groupes, contrairement à l'étude menée par Diem et al..

III.2.3. NLR

Devant l'activité anti-lymphocytaire possible par les PNN et les différentes cellules présents dans le microenvironnement tumoral (Tumor Associated Neutrophils, MDSC), les chercheurs se sont intéressés au ratio entre neutrophiles et lymphocytes, le NLR.

Ainsi, le NLR_{i0} n'était pas différent entre les 2 groupes ($p=0.5$), et n'avait aucun impact sur la survie globale ($p=0.35$) contrairement aux études précédemment publiées (6,7). La répartition de la population en prenant les cut-off respectifs de ces 2 études (5 puis 3,6 et 6,4) n'ont pas permis non plus de démontrer de différences entre les 2 populations. Le taux moyen de PNN avant la première injection était à 5,4 G/L, les lymphocytes étaient à 1,6 G/L. Ces résultats sont proches de ces études.

Cette différence pourrait s'expliquer par la différence au niveau de la taille des échantillons : notre étude ne comporte que 59 patients, particulièrement sélectionnés, contre respectivement 52 (6) et 175 (7). Les moyennes d'âge étaient sensiblement plus élevées dans ces 2 études, avec des patients présentant majoritairement un PS supérieur ou égal à 1. Une majorité des patients recevait, comme dans notre étude, un traitement en 2^e ligne après avoir reçu en première ligne un doublet à base de sels de platine.

NLR_{i4} montrait des résultats bien plus intéressants, avec une différence entre les deux populations. On notait une différence significative sur la survie ($p=0.03$) avec une médiane mesurée à 3,6 mois contre 2,1 mois dans la précédente étude publiée (8).

Concernant notre variable d'intérêt, ΔNLR , tous les résultats convergent. En effet, on retrouve une différence très significative ($p=0.0019$) entre les 2 groupes pour $\Delta NLR > 1$, et son impact sur la survie globale est important. La précédente étude publiée sur ce sujet (10) démontrait uniquement que la majoration du $NLR > 30\%$ entre la première et la 2^{ème} injection puis entre la 2^{ème} et la 3^{ème} injection entraînait une baisse du temps de traitement sous nivolumab. De plus, cette étude portait uniquement sur 19 patients, avec une moyenne d'âge plus élevée (70,5 ans), des cancers de stade 3 non résécables ou des rechutes, et ils avaient reçu un nombre plus important de chimiothérapies avant mise sous immunothérapie (2 lignes ou plus). Aucun lien n'avait été mis en évidence entre l'évolution de ce biomarqueur et la survie globale. Les résultats trouvés dans notre étude sont en accord avec ceux décrits dans le cancer rénal métastatique: une augmentation significative du NLR est directement en lien avec une baisse de la survie globale (9).

Quand on s'intéresse aux 2 variables composant le NLR, à savoir, le taux de PNN et celui de lymphocytes, les résultats de notre travail reflètent l'importance de ces 2 lignées cellulaires. La comparaison des 2 populations permet de souligner uniquement une différence au niveau de PNN_{i4} , avec un taux plus important dans la population des progressseurs précoces, les Ly_{i0} et Ly_{i4} étant similaires dans les 2 populations. Un taux élevé de PNN, défini comme supérieur à 7,21G/L avait déjà démontré son intérêt, avec une baisse de la survie dans

l'étude de Bagley et al (7). Dans cette même étude, seuls les patients avec un taux de lymphocytes supérieur à 1,36 G/L présentaient un intérêt avec une augmentation de la survie globale. Cependant, quand on étudie l'évolution de chacune des 2 variables, seul le Δ ALC est significatif.

En résumé: les patients présentant une augmentation sensible, supérieure à 1, de leur NLR ont plus de chance de présenter une progression précoce avec une baisse de la survie globale. Le taux de PNN varie peu, certes, mais il semblerait que le fait d'avoir un taux élevé dès le départ persistant à i4 entraîne une baisse de la survie globale. A l'inverse, les taux de Ly à i0 et i4 sont identiques, mais l'absence de majoration du taux de lymphocyte entraîne une baisse de la survie globale. On peut donc légitimement se demander si il n'existerait pas un taux seuil de PNN au dessus duquel l'action du nivolumab serait bloquée par ces cellules et comment le définir. Est il préférable de définir ce seuil uniquement à un instant t avec notamment le ratio NLR_{i0} ? Devant la diversité inter-individuelle, l'étude de l'évolution de ce marqueur au cours des premières injections n'est-elle pas plus appropriée? Les différentes données sur les sous-populations neutrophiliques composant le microenvironnement tumoral pourraient aussi éventuellement apporter une part de réponse. Des études prospectives portant sur un nombre plus important de patients paraissent nécessaires.

III.3. Limites

Outre le fait que cette étude est rétrospective, sur une population de 59 patients, avec une récolte manuelle des données, plusieurs limites peuvent être soulevées.

III.3.1. Le choix du nivolumab

Tous les patients inclus dans l'étude ont reçu uniquement du nivolumab afin de diminuer les biais pouvant être dus aux différences entre les différents anti PD-1 ou PD-L1. De plus, les 2 autres traitements disponibles (le pembrolizumab et l'atezolizumab) ont été utilisés dans la pratique courante bien après le nivolumab. Le pembrolizumab ayant démontré un intérêt en 1^{ère} ligne chez les patients avec un PD-L1>50% suite à l'essai Keynote 021 publié en 2016 (82), et chez tous les patients, sans sélection sur leur statut PD-L1 en 2018 (83), le recul n'était pas suffisant pour recueillir les données d'un nombre suffisant de patients dans le cadre de ce travail dont l'inclusion a débuté en janvier 2017. L'atezolizumab n'a pour le moment qu'une autorisation temporaire de mise sur le marché uniquement en 2^e ligne et sans limite quand au seuil de PD-L1. Nous avons donc pris la décision de n'inclure que des patients sous nivolumab en 2^{ème} ligne de traitement, puisque ce traitement a reçu l'AMM le 3 février 2016 ce qui permet à 321 patients d'en recevoir aux CHU de Limoges et Bordeaux (179 à Limoges, 142 à Bordeaux) depuis l'obtention de cette AMM.

III.3.2. L'impact du type histologique

Cette étude tend à prouver que le type histologique adénocarcinome a un impact positif sur l'effet du nivolumab et la survie globale. En effet, Yang et al a démontré dans une méta-analyse l'effet positif du caractère non-épidermoïde sur la survie globale (84). Cependant, on retrouve au niveau de l'inclusion des patients 3 fois plus de carcinomes épidermoïdes dans la population des progressseurs que dans celle des répondeurs. On peut donc se demander si ces résultats ne sont pas dus à un biais d'inclusion.

III.3.3. L'absence d'analyse du statut PD-L1

Devant les résultats obtenus par un autre anti PD-1, le pembrolizumab (46), les questions autour de l'impact du statut PD-L1 sur l'efficacité du nivolumab restent en suspens. L'étude Checkmate 012 (52) a eu des résultats contrastés sur l'association nivolumab et ipilimumab en 1^{ère} ligne après avoir dichotomisé les patients selon leurs statuts PD-L1 seul. Une minorité de patients inclus dans notre étude possédait un statut PD-L1 disponible. On ne notait aucune différence à ce sujet entre les 2 groupes.

Conclusion

Notre travail a permis de mettre en avant l'importance de la réponse du cancer au traitement précédent l'immunothérapie ainsi que la place prépondérante du type de réponse immunitaire et l'effet délétère des PNN sur l'action du nivolumab. Ainsi, la manière de définir un niveau seuil au-dessus duquel on estime que l'activité anti-lymphocytaire des neutrophiles est trop importante pour être contrebalancée par le nivolumab seul reste à clarifier. Une étude prospective, multicentrique, comparant le caractère prédictif d'une valeur seuil initiale avec le suivi du NLR au cours du temps (y compris dans les traitements précédents l'immunothérapie) est nécessaire. L'étude des sous-populations neutrophiliques (TAN, MDSC) dans le cancer du poumon paraît aussi importante afin de compléter notre compréhension des interactions intercellulaires. Enfin, au vu de l'inefficacité du nivolumab dans ce type de patient progressifs précoces, une étude spécifique à cette population, prospective, comparant l'efficacité du Taxol à celle du nivolumab paraît intéressante.

Par ailleurs, plusieurs molécules ont été développées pour tenter d'influencer l'activité anti-lymphocytaire des neutrophiles. Cependant, elles ont toutes présenté des effets indésirables importants ce qui n'a pas permis de poursuivre leurs développements.

Références bibliographiques

1. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Jul 9;373(2):123–35.
2. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015 Oct 22;373(17):1627–39.
3. Vergnenègre A, Chouaïd C. Review of economic analyses of treatment for non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res*. 2018 Oct;18(5):519–28.
4. Fukui T, Okuma Y, Nakahara Y, Otani S, Igawa S, Katagiri M, et al. Activity of Nivolumab and Utility of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio as a Predictive Biomarker for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Prospective Observational Study. *Clin Lung Cancer*. 2018 May 5;
5. Die krankhaften Geschwülste, Virchow. *Encyclopedia Britannica*.
6. Diem S, Schmid S, Krapf M, Flatz L, Born D, Jochum W, et al. Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab. *Lung Cancer Amst Neth*. 2017 Sep;111:176–81.
7. Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, Bauml JM, Alley EW, Evans TL, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth*. 2017;106:1–7.
8. Suh KJ, Kim SH, Kim YJ, Kim M, Keam B, Kim TM, et al. Post-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio at week 6 is prognostic in patients with advanced non-small cell lung cancers treated with anti-PD-1 antibody. *Cancer Immunol Immunother CII*. 2017 Dec 4;
9. Lalani A-KA, Xie W, Martini DJ, Steinharter JA, Norton CK, Krajewski KM, et al. Change in Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) in response to immune checkpoint blockade for metastatic renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2018 Jan 22;6(1):5.
10. Kiriu T, Yamamoto M, Nagano T, Hazama D, Sekiya R, Katsurada M, et al. The time-series behavior of neutrophil-to-lymphocyte ratio is useful as a predictive marker in non-small cell lung cancer. Coleman WB, editor. *PLOS ONE*. 2018 Feb 15;13(2):e0193018.
11. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A. Neutrophil function: from mechanisms to disease. *Annu Rev Immunol*. 2012;30:459–89.
12. Liang W, Ferrara N. The Complex Role of Neutrophils in Tumor Angiogenesis and Metastasis. *Cancer Immunol Res*. 2016 Feb 1;4(2):83–91.
13. Shaul ME, Fridlender ZG. Cancer related circulating and tumor-associated neutrophils - subtypes, sources and function. *FEBS J*. 2018 May 31;
14. Costantini C, Calzetti F, Perbellini O, Micheletti A, Scarponi C, Lonardi S, et al. Human neutrophils interact with both 6-sulfo LacNAc+ DC and NK cells to amplify NK-derived IFN{gamma}: role of CD18, ICAM-1, and ICAM-3. *Blood*. 2011 Feb 3;117(5):1677–86.

15. Aoyagi Y, Oda T, Kinoshita T, Nakahashi C, Hasebe T, Ohkohchi N, et al. Overexpression of TGF- β by infiltrated granulocytes correlates with the expression of collagen mRNA in pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 2004 Oct;91(7):1316–26.
16. Timosenko E, Hadjinicolaou AV, Cerundolo V. Modulation of cancer-specific immune responses by amino acid degrading enzymes. *Immunotherapy*. 2017 Jan;9(1):83–97.
17. Kuby Immunology, 7th Edition - Download Free EBooks [Internet]. [cited 2018 Jul 14]. Available from: <http://www.ebook777.com/kuby-immunology-7th-edition/>
18. Catros V, Toutirais O, Bouet F, Cabillic F, Desille M, Fournié J-J. Lymphocytes T $\gamma\delta$ en cancérologie - Des lymphocytes tueurs non conventionnels. *médecine/sciences*. 2010 Feb 1;26(2):185–92.
19. Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural Innate and Adaptive Immunity to Cancer. *Annu Rev Immunol*. 2011;29(1):235–71.
20. Reiman JM, Kmiecik M, Manjili MH, Knutson KL. Tumor immunoediting and immunosculpting pathways to cancer progression. *Semin Cancer Biol*. 2007 Aug;17(4):275–87.
21. Spiotto MT, Rowley DA, Schreiber H. Bystander elimination of antigen loss variants in established tumors. *Nat Med*. 2004 Mar;10(3):294–8.
22. Bagnoli M, Canevari S, Mezzanzanica D. Cellular FLICE-inhibitory protein (c-FLIP) signalling: a key regulator of receptor-mediated apoptosis in physiologic context and in cancer. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010 Feb;42(2):210–3.
23. Medema JP, de Jong J, Peltenburg LT, Verdegaal EM, Gorter A, Bres SA, et al. Blockade of the granzyme B/perforin pathway through overexpression of the serine protease inhibitor PI-9/SPI-6 constitutes a mechanism for immune escape by tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 25;98(20):11515–20.
24. Sionov RV, Fridlender ZG, Granot Z. The Multifaceted Roles Neutrophils Play in the Tumor Microenvironment. *Cancer Microenviron Off J Int Cancer Microenviron Soc*. 2015 Dec;8(3):125–58.
25. Brandau S, Moses K, Lang S. The kinship of neutrophils and granulocytic myeloid-derived suppressor cells in cancer: Cousins, siblings or twins? *Semin Cancer Biol*. 2013 Jun 1;23(3):171–82.
26. Houghton AM, Rzymkiewicz DM, Ji H, Gregory AD, Egea EE, Metz HE, et al. Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat Med*. 2010 Feb;16(2):219–23.
27. Queen MM, Ryan RE, Holzer RG, Keller-Peck CR, Jorcyk CL. Breast Cancer Cells Stimulate Neutrophils to Produce Oncostatin M: Potential Implications for Tumor Progression. *Cancer Res*. 2005 Oct 1;65(19):8896–904.
28. Cools-Lartigue J, Spicer J, McDonald B, Gowing S, Chow S, Giannias B, et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest*. 2013 Jul 1;
29. Bellocq A, Antoine M, Flahault A, Philippe C, Crestani B, Bernaudin JF, et al. Neutrophil alveolitis in bronchioloalveolar carcinoma: induction by tumor-derived interleukin-8 and relation to clinical outcome. *Am J Pathol*. 1998 Jan;152(1):83–92.

30. Zhou S-L, Dai Z, Zhou Z-J, Wang X-Y, Yang G-H, Wang Z, et al. Overexpression of CXCL5 mediates neutrophil infiltration and indicates poor prognosis for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* Baltim Md. 2012 Dec;56(6):2242–54.
31. Lu T, Ramakrishnan R, Altiok S, Youn J-I, Cheng P, Celis E, et al. Tumor-infiltrating myeloid cells induce tumor cell resistance to cytotoxic T cells in mice. *J Clin Invest*. 2011 Oct;121(10):4015–29.
32. Yan HH, Pickup M, Pang Y, Gorska AE, Li Z, Chytil A, et al. Gr-1+CD11b+ myeloid cells tip the balance of immune protection to tumor promotion in the premetastatic lung. *Cancer Res*. 2010 Aug 1;70(15):6139–49.
33. Laoui D, Van Overmeire E, Di Conza G, Aldeni C, Keirsse J, Morias Y, et al. Tumor hypoxia does not drive differentiation of tumor-associated macrophages but rather fine-tunes the M2-like macrophage population. *Cancer Res*. 2014 Jan 1;74(1):24–30.
34. Van Overmeire E, Stijlemans B, Heymann F, Keirsse J, Morias Y, Elkrim Y, et al. M-CSF and GM-CSF Receptor Signaling Differentially Regulate Monocyte Maturation and Macrophage Polarization in the Tumor Microenvironment. *Cancer Res*. 2016 Jan 1;76(1):35–42.
35. Ruffell B, Chang-Strachan D, Chan V, Rosenbusch A, Ho CMT, Pryer N, et al. Macrophage IL-10 blocks CD8+ T cell-dependent responses to chemotherapy by suppressing IL-12 expression in intratumoral dendritic cells. *Cancer Cell*. 2014 Nov 10;26(5):623–37.
36. Umansky V, Adema GJ, Baran J, Brandau S, Van Ginderachter JA, Hu X, et al. Interactions among myeloid regulatory cells in cancer. *Cancer Immunol Immunother* [Internet]. 2018 Jul 12 [cited 2018 Jul 17]; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00262-018-2200-6>
37. Balkwill FR, Mantovani A. Cancer-related inflammation: Common themes and therapeutic opportunities. *Semin Cancer Biol*. 2012 Feb;22(1):33–40.
38. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992 Nov;11(11):3887–95.
39. Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, Yao Y, Zang X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends Mol Med*. 2015 Jan;21(1):24–33.
40. Chinai JM, Janakiram M, Chen F, Chen W, Kaplan M, Zang X. New immunotherapies targeting the PD-1 pathway. *Trends Pharmacol Sci*. 2015 Sep;36(9):587–95.
41. Keir ME, Liang SC, Guleria I, Latchman YE, Qipo A, Albacker LA, et al. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J Exp Med*. 2006 Apr 17;203(4):883–95.
42. Limmer A, Ohl J, Kurts C, Ljunggren HG, Reiss Y, Groettrup M, et al. Efficient presentation of exogenous antigen by liver endothelial cells to CD8+ T cells results in antigen-specific T-cell tolerance. *Nat Med*. 2000 Dec;6(12):1348–54.
43. Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2003 Jan;3(1):51–62.

44. Wang J-CE, Livingstone AM. Cutting edge: CD4⁺ T cell help can be essential for primary CD8⁺ T cell responses in vivo. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2003 Dec 15;171(12):6339–43.
45. Jiang T, Liu H, Qiao M, Li X, Zhao C, Su C, et al. Impact of Clinicopathologic Features on the Efficacy of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Patients With Previously Treated Non-small-cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2017 Nov 9;
46. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2016 Apr 9;387(10027):1540–50.
47. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, 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. *Lancet Lond Engl*. 2017 21;389(10066):255–65.
48. Lee W, Jiang Z, Liu J, Haverty PM, Guan Y, Stinson J, et al. The mutation spectrum revealed by paired genome sequences from a lung cancer patient. *Nature*. 2010 May;465(7297):473–7.
49. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015 Apr 3;348(6230):124–8.
50. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2008 Sep 25;359(13):1367–80.
51. Wistuba II, Gazdar AF. Lung cancer preneoplasia. *Annu Rev Pathol*. 2006;1:331–48.
52. Hellmann MD, Rizvi NA, Goldman JW, Gettinger SN, Borghaei H, Brahmer JR, et al. Nivolumab plus ipilimumab as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 012): results of an open-label, phase 1, multicohort study. *Lancet Oncol*. 2017 Jan;18(1):31–41.
53. Pinker K, Riedl C, Weber WA. Evaluating tumor response with FDG PET: updates on PERCIST, comparison with EORTC criteria and clues to future developments. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017 Aug;44(Suppl 1):55–66.
54. Tumei PC, Hellmann MD, Hamid O, Tsai KK, Loo KL, Gubens MA, et al. Liver Metastasis and Treatment Outcome with Anti-PD-1 Monoclonal Antibody in Patients with Melanoma and NSCLC. *Cancer Immunol Res*. 2017 May;5(5):417–24.
55. Qian S, Lu L, Fu F, Li Y, Li W, Starzl TE, et al. Apoptosis within spontaneously accepted mouse liver allografts: evidence for deletion of cytotoxic T cells and implications for tolerance induction. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1997 May 15;158(10):4654–61.
56. Jenne CN, Kubes P. Immune surveillance by the liver. *Nat Immunol*. 2013 Oct;14(10):996–1006.
57. Limmer A, Ohl J, Wingender G, Berg M, Jüngerkes F, Schumak B, et al. Cross-presentation of oral antigens by liver sinusoidal endothelial cells leads to CD8 T cell tolerance. *Eur J Immunol*. 2005 Oct;35(10):2970–81.

58. John B, Crispe IN. Passive and active mechanisms trap activated CD8+ T cells in the liver. *J Immunol Baltim Md* 1950. 2004 May 1;172(9):5222–9.
59. Facchinetti F, Veneziani M, Buti S, Gelsomino F, Squadrilli A, Bordi P, et al. Clinical and hematologic parameters address the outcomes of non-small-cell lung cancer patients treated with nivolumab. *Immunotherapy*. 2018 Jun;10(8):681–94.
60. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2002 Aug;2(8):584–93.
61. Langley RR, Fidler IJ. The seed and soil hypothesis revisited--the role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *Int J Cancer*. 2011 Jun 1;128(11):2527–35.
62. Kobayashi H, Omori S, Nakashima K, Wakuda K, Ono A, Kenmotsu H, et al. Response to the treatment immediately before nivolumab monotherapy may predict clinical response to nivolumab in patients with non-small cell lung cancer. *Int J Clin Oncol*. 2017 Aug;22(4):690–7.
63. Shaverdian N, Lisberg AE, Bornazyan K, Veruttipong D, Goldman JW, Formenti SC, et al. Previous radiotherapy and the clinical activity and toxicity of pembrolizumab in the treatment of non-small-cell lung cancer: a secondary analysis of the KEYNOTE-001 phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2017 Jul;18(7):895–903.
64. Tamiya A, Tamiya M, Nakahama K, Taniguchi Y, Shiroyama T, Isa S-I, et al. Correlation of Radiation Pneumonitis History Before Nivolumab with Onset of Interstitial Lung Disease and Progression-free Survival of Patients with Pre-treated Advanced Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res*. 2017;37(9):5199–205.
65. Kataoka Y, Ebi N, Fujimoto D, Hara S, Hirano K, Narabayashi T, et al. Prior radiotherapy does not predict nivolumab response in non-small-cell lung cancer: a retrospective cohort study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017 01;28(6):1402.
66. Matera L. Endocrine, paracrine and autocrine actions of prolactin on immune cells. *Life Sci*. 1996;59(8):599–614.
67. Caponnetto S, Iannantuono GM, Barchiesi G, Magri V, Gelibter A, Cortesi E. Prolactin as a Potential Early Predictive Factor in Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab. *Oncology*. 2017;93(1):62–6.
68. Jiang T, Qiao M, Zhao C, Li X, Gao G, Su C, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of advanced-stage cancer patients treated with immunotherapy: a meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother*. 2018 May;67(5):713–27.
69. Peng B, Wang Y-H, Liu Y-M, Ma L-X. Prognostic significance of the neutrophil to lymphocyte ratio in patients with non-small cell lung cancer: a systemic review and meta-analysis. :9.
70. Scilla KA, Bentzen SM, Lam VK, Mohindra P, Nichols EM, Vyfhuis MA, et al. Neutrophil-Lymphocyte Ratio Is a Prognostic Marker in Patients with Locally Advanced (Stage IIIA and IIIB) Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Combined Modality Therapy. *The Oncologist*. 2017 Jun;22(6):737–42.

71. Zhao Q-T, Yang Y, Xu S, Zhang X-P, Wang H-E, Zhang H, et al. Prognostic role of neutrophil to lymphocyte ratio in lung cancers: a meta-analysis including 7,054 patients. *OncoTargets Ther.* 2015;8:2731–8.
72. Russo A, Franchina T, Ricciardi GRR, Battaglia A, Scimone A, Berenato R, et al. Baseline neutrophilia, derived neutrophil-to-lymphocyte ratio (dNLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), and outcome in non small cell lung cancer (NSCLC) treated with Nivolumab or Docetaxel. *J Cell Physiol.* 2018 Apr 19;
73. Mezquita L, Auclin E, Ferrara R, Charrier M, Remon J, Planchard D, et al. Association of the Lung Immune Prognostic Index With Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 2018 Mar 1;4(3):351–7.
74. Wang L, Liang D, Xu X, Jin J, Li S, Tian G, et al. The prognostic value of neutrophil to lymphocyte and platelet to lymphocyte ratios for patients with lung cancer. *Oncol Lett.* 2017 Dec;14(6):6449–56.
75. Shiroyama T, Suzuki H, Tamiya M, Tamiya A, Tanaka A, Okamoto N, et al. Pretreatment advanced lung cancer inflammation index (ALI) for predicting early progression in nivolumab-treated patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer Med.* 2018 Jan;7(1):13–20.
76. Champiat S, Dercle L, Ammari S, Massard C, Hollebecque A, Postel-Vinay S, et al. Hyperprogressive Disease Is a New Pattern of Progression in Cancer Patients Treated by Anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res.* 2017 Apr 15;23(8):1920–8.
77. 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. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2018 Jun 10;36(17):1675–84.
78. Obeid M, Panaretakis T, Tesniere A, Joza N, Tufi R, Apetoh L, et al. Leveraging the immune system during chemotherapy: moving calreticulin to the cell surface converts apoptotic death from “silent” to immunogenic. *Cancer Res.* 2007 Sep 1;67(17):7941–4.
79. Zitvogel L, Kepp O, Kroemer G. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. *Nat Rev Clin Oncol.* 2011 Mar;8(3):151–60.
80. Garde-Noguera J, Martin-Martorell P, De Julián M, Perez-Altozano J, Salvador-Coloma C, García-Sánchez J, et al. Predictive and prognostic clinical and pathological factors of nivolumab efficacy in non-small-cell lung cancer patients. *Clin Transl Oncol Off Publ Fed Span Oncol Soc Natl Cancer Inst Mex.* 2018 Aug;20(8):1072–9.
81. Heidelberger V, Goldwasser F, Kramkimel N, Jouinot A, Franck N, Arrondeau J, et al. Clinical parameters associated with anti-programmed death-1 (PD-1) inhibitors-induced tumor response in melanoma patients. *Invest New Drugs.* 2017;35(6):842–7.
82. Langer CJ, Gadgeel SM, Borghaei H, Papadimitrakopoulou VA, Patnaik A, Powell SF, et al. Carboplatin and pemetrexed with or without pembrolizumab for advanced, non-squamous non-small-cell lung cancer: a randomised, phase 2 cohort of the open-label KEYNOTE-021 study. *Lancet Oncol.* 2016 Nov;17(11):1497–508.

83. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 31;378(22):2078–92.
84. Yang Y, Pang Z, Ding N, Dong W, Ma W, Li Y, et al. The efficacy and potential predictive factors of PD-1/PD-L1 blockades in epithelial carcinoma patients: a systematic review and meta analysis. *Oncotarget*. 2016 Nov 8;7(45):74350–61.

Annexes

Annexe 1. ERORECI	83
-------------------------	----

Annexe 1. ERORECI



Version 15.03.18

Nom/Prénom

I. DIAGNOSTIC INITIAL

1- Données démographiques

Date de naissance (mois/année) : |__|_| / |__|_|_|_|_|

Age : |__|_|

Sexe : |__| 1.M 2.F

Statut tabagique : |__| 1. Non fumeur (< 100 cgt/vie) 2. Fumeur actif
3. Ex-fumeur (sevré > 1 an) 4. Donnée manquante

Nombre de PA (si applicable) : |__|_|_|_|

Antécédents de maladie auto-immune : |__| 1.oui 2.non 3.donnée manquante

Si oui, préciser :

2- Données cliniques au moment du diagnostic

Poids (en kg) : |__|_|_|_| Taille (en cm) : |__|_|_|_|

IMC : |__|_|_|

Performans Status : |__| 0 1 2 3 4 5.donnée manquante

Sous corticoïdes au long cours : |__| 1.oui 2.non 3.donnée manquante

*Si oui : Dose : |__| 1.≤10mg/j 2.10mg/j 3.donnée manquante**Indication, préciser :*

3- Données biologiques au moment du diagnostic

Albumine : |__|_|_|_|_| g/L donnée manquantePré-albumine : |__|_|_|_|_| g/L donnée manquanteCRP : |__|_|_| mg/L donnée manquante

Page 1 sur 18



Version 15.03.18

LDH : UI/L donnée manquante
 Supérieur à la limite ? donnée manquante
 1-oui 2-non

Leucocytes : G/L donnée manquante
 Lymphocytes : G/L donnée manquante
 Neutrophiles : G/L donnée manquante
 PNN :
 1 < 6 G/L 2 > 6 G/L

Eosinophiles : G/L donnée manquante
 Plaquettes : G/L donnée manquante
 Créatinine : μmol/L donnée manquante
 Rapport PNN/Lymphocytes :
 1 < 3,6 2 3,6-6,5 3 > 6,5
 1 < 5 2 > 5

Rapport dNLR (PNN/Leuco-PNN): donnée manquante
 1 < 3 2 > 3

Score LIPI : **(0, 1 ou 2)** donnée manquante
 Rapport PLR :
 1 < 169 2 169-328 3 > 328
 1 < 262 2 > 262

Indice d'inflammation systémique (Plqt*NLR) : donnée manquante
 1 < 730 2 > 730

4- Caractéristiques du cancer au diagnostic initial

4.1. Données générales

Réalisation d'une TEP-TDM : 1.oui 2.non

T N M Stade

Si stade IV : 1.M1a 2.M1b

Date du prélèvement diagnostique : / /

Type histologique :

1. Adénocarcinome 2. Carcinome neuroendocrine à grandes cellules

Page 2 sur 18



Version 15.03.18

3. Epidermoïde 4. Carcinome non à petites cellules indifférencié

5. Autre, préciser :

Préciser, TTF1 : 1. Positif 2. Négatif 3. Donnée manquante**Siège de la biopsie :**

1. Cerveau et méninges 2. Ganglions cervicaux et sus-claviculaires
 3. Poumon 4. Foie 5. Surrénales 6. Os 7. Plevre
 8. Autre, préciser :

Nombre de sites métastatiques : 1 2 3 4 5. >4**Sites métastatiques (multiples choix possibles) :**

||| 1. Cerveau et méninges 2. Ganglions cervicaux et sus-claviculaires
 3. Poumon 4. Foie 5. Surrénales 6. Os 7. Plevre
 8. Autre, préciser :

Si métastases cérébrales, nombre de lésions : 1 2. 2 à 5 3. 6 et plusSi métastases hépatiques, nombre de lésions : 1 2. 2 à 5 3. 6 et plus**4.2. Statut mutationnel**Date du prélèvement sur lequel a été faite l'analyse : / / Présence de mutations : 0. non 1. une mutation 2. plusieurs mutationsMéthode NGS : 1. oui 2. non**a) Mutations EGFR-R** 1. présente 0. absente 2. non faitSi présente : 1. exon 18 2. délétion exon 19 3. exon 20

4. mutation exon 21 L858R 5. autre, préciser :

b) Réarrangement ALK

Page 3 sur 18



Version 15.03.18

 1.présente 0.absente 2.non fait

c) Réarrangement ROS1

 1.présente 0.absente 2.non fait

d) Mutation PI3K

 1.présente 0.absente 2.non fait

e) Mutation BRAF

 1.présente 0.absente 2.non fait

f) HER2

 1.présente 0.absente 2.non fait

g) cMET

1) Expression en IHC

 1.présente 0.absente 2.non fait

2) Confirmation amplification par FISH

 1.présente 0.absente 2.non fait

3) Mutation saut d'exon 14 :

 1.présente 0.absente 2.non fait

h) KRAS

 1.présente 0.absente 2.non fait

i) Autres anomalies génétiques identifiées

Préciser :

4.3. Statut PDL1

Analyse de PDL1 : 1.fait 2.non fait

Prélèvement analysé :

Siège : 1.Tumeur primitive 2.Métastase

Prélèvement :

1. au diagnostic

Page 4 sur 18

2. entre les traitements antérieurs et le traitement par immunothérapie

Score PDL1 sur les cellules tumorales (TC) :

II. TRAITEMENTS ANTERIEURS A L'IMMUNOTHERAPIE

1- Radiothérapie

Radiothérapie : 1.oui 2.non

Si oui, compléter :

Site(s) : , (plusieurs choix possibles)

1.pulmonaire 2.encéphalique 3.osseuse

4. autre, préciser :

En condition stéréotaxique : 1.oui 2.non

En radio-chimiothérapie concomitante : 1.oui 2.non

2- Traitements de 1^{ère} ligne – Si immunothérapie en 1^{ère} ligne, passer au chapitre III

2.1. Choix du traitement

2.1.1. Bithérapie à base de sels de platine : 1.oui 2.non

Si oui, préciser la drogue associée aux sels de platine :

1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel
 4.Paclitaxel 5.Vinorelbine 6.Autre, préciser :

2.1.2. Monothérapie : 1.oui 2.non

Si oui, préciser :

1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel
 4.Paclitaxel 5.Vinorelbine 6.Autre, préciser :

2.1.3. Trithérapie avec Bevacizumab : 1.oui 2.non

2.1.4. Maintenance : 1.oui 2.non

Si oui, préciser (plusieurs choix possibles) : ,

- 1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel 4.Bevacizumab
 5.Paclitaxel 6.Vinorelbine 7.Autre, préciser :

Nombre de cycles de maintenance :

2.1.5. Thérapie ciblée : 1.oui 2.non

Si oui, préciser :

- 1.Erlotinib 2.Gefitinib 3.Afatinib
 4.Autre anti-EGFR, préciser :
 5. Crizotinib 6.Autre anti-ALK, préciser :
 7.Autre thérapie ciblée, préciser :

2.2. Modalités et évaluation du traitement

Date de début : //

Date de fin : //

Nombre de cycles ou nombre de mois pour les thérapies ciblées :

Meilleure réponse : 1.Réponse complète 2.Réponse partielle 3.Stabilité
 4.Progression 5.Non évaluée

Cause d'arrêt : 1.Progression 2.Toxicité
 3.Evènement intercurrent 4.Arrêt programmé

Si progression, préciser :

Date de la progression : //

Site de la progression : 1.Cerveau et méninges
 2.Ganglions cervicaux et sus claviculaires 3.Poumon 4.Foie
 5.Surrénales 6.Os 7.Plevre
 8.Autres (préciser) :

3- Traitements de 2^{ème} ligne – Si immunothérapie en 2^{ème} ligne, passer au chapitre III

3.1. Choix du traitement

3.1.1. Bithérapie à base de sels de platine : 1.oui 2.non

Si oui, préciser la drogue associée aux sels de platine :

- 1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel
 4.Paclitaxel 5.Vinorelbine 6.Autre, préciser :

3.1.2. Monothérapie : 1.oui 2.non

Si oui, préciser :

- 1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel
 4.Paclitaxel 5.Vinorelbine 6.Autre, préciser :

3.1.3. Trithérapie avec Bevacizumab : 1.oui 2.non

3.1.4. Maintenance : 1.oui 2.non

Si oui, préciser (plusieurs choix possibles) : ,

- 1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel 4.Bevacizumab
 5.Paclitaxel 6.Vinorelbine 7.Autre, préciser :

Nombre de cycles de maintenance :

3.1.5. Thérapie ciblée,

Si oui, préciser :

- 1.Erlotinib 2.Gefitinib 3.Afatinib
 4.Autre anti-EGFR, préciser :
 5. Crizotinib 6.Autre anti-ALK, préciser :
 7.Autre thérapie ciblée, préciser :

3.2. Modalités et évaluation du traitement

Date de début : //

Date de fin : //

Nombre de cycles ou nombre de mois pour les thérapies ciblées :

Meilleure réponse : 1.Réponse complète 2.Réponse partielle 3.Stabilité
 4.Progression 5.Non évaluée



Version 15.03.18

5. Crizotinib 6. Autre anti-ALK, préciser :

7. Autre thérapie ciblée, préciser :

3.2. Modalités et évaluation du traitement

Date de début : |_|_|/|_|_|/|_|_|

Date de fin : |_|_|/|_|_|/|_|_|

Nombre de cycles ou nombre de mois pour les thérapies ciblées : |_|_|

Meilleure réponse : |_|_| 1. Réponse complète 2. Réponse partielle 3. Stabilité
4. Progression 5. Non évaluée

Cause d'arrêt : |_|_| 1. Progression 2. Toxicité
3. Evènement intercurrent 4. Arrêt programmé

Si progression, préciser :

Date de la progression : |_|_|/|_|_|/|_|_|

Site de la progression : |_|_| 1. Cerveau et méninges
2. Ganglions cervicaux et sus claviculaires 3. Poumon 4. Foie
5. Surrénales 6. Os 7. Plevre
8. Autres (préciser) :

Biologie lors de la dernière cure de traitement avant progression conduisant à la mise sous immunothérapie:

Lymphocytes : |_|_|,|_|_| G/L Donnée manquante

Lymphopénie : |_|_| 1. <1 G/L 2. >1 G/L

Leucocytes : |_|_|,|_|_| G/L Donnée manquanteNeutrophiles : |_|_|,|_|_| G/L Donnée manquante

PNN : |_|_| 1. <6 G/L 2. >6 G/L

Eosinophiles : |_|_|,|_|_| G/L Donnée manquantePlaquettes : |_|_|,|_|_| G/L donnée manquanteAlbumine : |_|_|,|_|_| g/L Donnée manquantePré-albumine : |_|_|,|_|_| g/L Donnée manquante

Dénutrition (Albumine <30g/L, pré-albumine <110mg/L) :

Page 9 sur 18



Version 15.03.18

1.oui 2.non
 CRP : mg/L Donnée manquante
 LDH : UI/L donnée manquante
 Supérieur à la limite ?
 1-oui 2-non donnée manquante
 Créatinine : µmol/L Donnée manquante
 Clairance (Cockroft) : mL/min Donnée manquante
 Insuffisance rénale (Cockroft <90ml/min) : 1.oui 2.non
 Rapport PNN/Lymphocytes : , donnée manquante
 1 < 3,6 2 3,6-6,5 3 >6,5
 1 < 5 2 > 5
 Rapport dNLR (PNN/Leuco-PNN): donnée manquante
 1 < 3 2 > 3
 Score LIPI : **(0, 1 ou 2)** donnée manquante
 Rapport PLR : , donnée manquante
 1 < 169 2 169-328 3 > 328
 1 < 262 2 > 262
 Indice d'inflammation systémique (Plqt*NLR) : donnée manquante
 1 < 730 2 > 730

III TRAITEMENT PAR IMMUNOTHERAPIE

1- Traitement par immunothérapie

Perte de poids avant immunothérapie (par rapport au poids de forme avant la maladie métastatique) : 1.<5% 2.>5% 3.Donnée manquante

Statut tabagique: 1.actif 2.sevré 3.Donnée manquante

Délais entre la fin de la chimiothérapie et le début de l'immunothérapie :

1.<1 mois 2. Entre 1 et 3 mois 3.>3 mois

Réponse au traitement précédent l'immunothérapie : 1.oui 2.non

Présence de métastases Hépatiques : 1.oui 2.non 3.Donnée manquante

Apparition des métastases Hépatiques :

Page 10 sur 18



Version 15.03.18

1. Au diagnostic initial 2. Au cours/fin chimiothérapie

Réponse des métastases Hépatique à la chimiothérapie : 1.oui 2.non 3.Donnée manquante**Présence métastases cérébrales :** 1.oui 2.nonApparition des métastases cérébrales :

1. Au diagnostic initial 2. Au cours/fin chimiothérapie

Réponse des métastases cérébrales à la chimiothérapie : 1.oui 2.non 3.Donnée manquante**Présence métastases osseuses :** 1.oui 2.nonApparition des métastases osseuses :

1. Au diagnostic initial 2. Au cours/fin chimiothérapie

Réponse des métastases osseuses à la chimiothérapie : 1.oui 2.non 3.Donnée manquante**Date de début immunothérapie:** / / **Nombre d'injections :** **Date de la dernière injection :** / / **Bilan biologique au C1J1 d'immunothérapie :**Lymphocytes : , G/L Donnée manquante*Lymphopénie :* 1.<1 G/L 2.>1 G/LLeucocytes : , G/L Donnée manquanteNeutrophiles : , G/L Donnée manquante*PNN :* 1.<6 G/L 2.>6 G/LEosinophiles : , G/L Donnée manquantePlaquettes : , G/L donnée manquanteAlbumine : , g/L Donnée manquantePré-albumine : , g/L Donnée manquante*Dénutrition (Albumine <30g/L, pré-albumine <110mg/L) :* 1.oui 2.nonCRP : mg/L Donnée manquanteLDH : UI/L donnée manquanteSupérieur à la limite ? donnée manquante

Page 11 sur 18

1-oui	2-non	
Créatinine :	□□□□ μmol/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
Clairance (Cockroft) :	□□□□ mL/min	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
<i>Insuffisance rénale (Cockroft <90ml/min) :</i>		□□ 1.oui 2.non
Rapport PNN/Lymphocytes :	□□, □□	<input type="checkbox"/> donnée manquante
1 < 3,6	2 3,6-6,5	3 >6,5
1 < 5	2 > 5	
Rapport dNLR (PNN/Leuco-PNN):	□□	<input type="checkbox"/> donnée manquante
1 < 3	2 > 3	
Score LIPI :	□□ (0, 1 ou 2)	<input type="checkbox"/> donnée manquante
Rapport PLR :	□□, □□	<input type="checkbox"/> donnée manquante
1 < 169	2 169-328	3 > 328
1 < 262	2 > 262	
Indice d'inflamantion systémique (Plqt*NLR) :	□□	<input type="checkbox"/> donnée manquante
1 < 730	2 > 730	

Bilan biologique au C2J15 d'immunothérapie (4e injection) :

Lymphocytes :	□□□, □□□ G/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
<i>Lymphopénie :</i>	□□ 1.<1 G/L	2.>1 G/L
Leucocytes :	□□□, □□□ G/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
Neutrophiles :	□□□, □□□ G/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
<i>PNN :</i>	□□ 1.<6 G/L	2.>6 G/L
Eosinophiles :	□□□, □□□ G/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
Plaquettes :	□□□, □□□ G/L	<input type="checkbox"/> donnée manquante
Albumine :	□□□, □□ g/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
Pré-albumine :	□□, □□□ g/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
<i>Dénutrition (Albumine <30g/L, pré-albumine <110mg/L) :</i>		
	□□ 1.oui 2.non	
CRP :	□□□ mg/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
LDH :	□□□□ UI/L	<input type="checkbox"/> donnée manquante
Supérieur à la limite ?	□□	<input type="checkbox"/> donnée manquante

1-oui	2-non	
Créatinine :	□□□□ μmol/L	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
Clairance (Cockroft) :	□□□□ mL/min	<input type="checkbox"/> Donnée manquante
<i>Insuffisance rénale (Cockroft <90ml/min) :</i>		□□ 1.oui 2.non
Rapport PNN/Lymphocytes :	□□, □□	<input type="checkbox"/> donnée manquante

4. Progression

5. Non évaluée

Si réponse partielle ou complète, préciser :Date de la 1^{ère} réponse : / / Site de la réponse : 1. Cerveau et méninges

2. Ganglions cervicaux et sus-claviculaires 3. Poumon

4. Foie 5. Surrénales 6. Os 7. Sous-cutanée

8. Autres (préciser) :

Nombre d'évaluation avec maintien de la réponse : Date de la meilleure réponse : / / % de réponse selon RECIST à la meilleure réponse : ***Si progression, préciser :***Date de la progression : / / Progression asymptomatique : 1. oui 2. nonRéalisation d'une TEP-TDM : 1. oui 2. nonRéalisation d'une biopsie : 1. oui 2. nonType de progression :

1. Majoration des lésions existantes 2. Apparition de nouvelles lésions

Site(s) de progression (plusieurs choix possibles) : ,

1. Cerveau et méninges 2. Ganglions cervicaux et sus-claviculaires

3. Poumon 4. Foie 5. Surrénales 6. Os 7. Plevre

8. Autres (préciser) :

Décision thérapeutique à progression :

1. nouvelle ligne de traitement 2. Abstention thérapeutique

3. Pause thérapeutique, durée : jours4. Poursuite au delà de la progression, durée : jours
3- Caractéristiques du cancer à la progression sous immunothérapie, à 12 mois pour patient répondant à l'immunothérapie

Date de la progression : / /

Progression asymptomatique : 1.oui 0.non

3.1. Données cliniques

Poids (en kg) :

Performans Status : 0 1 2 3 4 5.donnée manquante

Sous corticoïdes au long cours : 1.oui 0.non 2.donnée manquante

Si oui : Dose : 1.≤10mg/j 2.>10mg/j 3.donnée manquante

Indication :

3.3. Caractéristiques du cancer à la progression sous immunothérapie

T N M Stade

Si stade IV : 1.M1a 2.M1b

Nombre de sites métastatiques : 1 2 3 4 5.> 4

Site des métastases (multiples choix possibles) : , ,

1.Cerveau et méninges 2.Ganglions cervicaux et sus claviculaires

3.Poumon 4.Foie 5.Surrénales 6.Os 7.Plevre

8.Autres (préciser) :

Nouvelle biopsie réalisée : 1.oui 2.non

Si oui, préciser :

a) Date de l'histologie : / /

b) Type histologique :

1. Adénocarcinome 2. Carcinome neuroendocrine à grandes cellules

3. Epidermoïde 4. Carcinome non à petites cellules indifférencié

5. Autre, préciser :

Préciser, TTF1 : 1.Positif 2.Négatif 3.Donnée manquante

c) Sièges de la biopsie :



Version 15.03.18

- 1.Cerveau et méninges 2.Ganglions cervicaux et sus claviculaires
 3.Poumon 4.Foie 5.Surrénales 6.Os
 7.Plevre 8.Autre, préciser :

IV. TRAITEMENTS POSTERIEURS A L'IMMUNOTHERAPIE

1- Radiothérapie

Radiothérapie : 1.oui 2.non

Si oui, préciser :

Du // *au* //

Site(s) : , (*plusieurs choix possibles*)

- 1.pulmonaire 2.encéphalique 3.osseuse
 4. autre, préciser :

En condition stéréotaxique : 1.oui 2.non

Toxicité de grade ≥ 3 : 1.oui 0.non 2.donnée manquante

Si oui, préciser :

2- 1^{ère} Séquence de traitement post-immunothérapie

Type de traitement :

- 1.Pemetrexed 2.Gemcitabine 3.Docetaxel 4.Paclitaxel
 5.Vinorelbine 6.Immunothérapie 7.Thérapie ciblée
 8 Autre, préciser :

Date de début : //

Date de fin : //

Nombre de cycles ou nombre de mois pour les thérapies ciblées :

Meilleure réponse : 1.Réponse complète 2.Réponse partielle 3.Stabilité



Version 15.03.18

Supérieur à 50% : 1.<oui 2.> non

Supérieur à 80% : 1.<oui 2.> non

VI. SUIVI

Date des dernières nouvelles : / /

1.Vivant 2.Décédé 3.Perdu de vue

Si décédé, préciser :

Date du décès : / /

Cause du décès :

- 1.Progression tumorale
- 2.Toxicité des traitements oncologiques

Préciser :

3.Autre, préciser :

Serment d'Hippocrate

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Etude des marqueurs clinico-biologiques prédictifs de réponse au nivolumab chez les patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules avancés

Objectifs : Le nivolumab a démontré son intérêt en 2^e ligne de traitement dans les cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules (CBNPC) métastatiques. Cependant, ce traitement est très chère et seule une minorité de patients répondent. Il a été démontré que l'état inflammatoire 2nd au cancer, caractérisé par certain marqueur comme le Neutrophil Lymphocyte ratio (NLR), chez les patients traités par chirurgie, chimiothérapie et même immunothérapie avait un impact sur la survie sans progression et globale. Mais aucune étude antérieure ne s'est intéressée à l'évolution de ces marqueurs après la mise sous nivolumab.

Méthode : Nous avons repris les dossiers des patients traités pour CBNPC aux CHU de Limoges et Bordeaux afin de sélectionner des patients progressant après 4 injections et ceux répondant au nivolumab pendant au moins 1 an. Leurs données cliniques et biologiques précèdent la mise sous immunothérapie, lors de la 1^e injection et de la 4^e injection ont été récoltés et analysés afin de permettre le calcul du NLR, et son évolution, le Δ NLR, définit par la différence entre le NLR à la 4^e injection moins le NLR à la 1^e injection.

Résultats : 59 patients ont été inclus. L'étude des caractéristiques des populations de progressseurs précoces et long répondeurs a permis de mettre en évidence une différence importante grand nombre de patients progressseurs précoce présentant un Δ NLR>1 ($p=0,0007$), OR=18.08 (IC95%(2.96-246.24), et une progression comme meilleure réponse au traitement précédent l'immunothérapie ($p=0,0014$). Dans l'analyse complémentaire, NLR<1 a eu un impact positif sur la survie globale (HR=0.001 IC95% (0.0007-0.18), $p=0.001$) tout comme la réponse au traitement précédent l'immunothérapie (HR=0.14, IC95%(0.03-0.56), $p=0.005$).

Conclusion: Dans une population sélectionnée nous avons démontré que les patients progressseurs précoces présentaient une progression sous traitement précédent la mise sous immunothérapie et Δ NLR>1, ces 2 données ayant également un impact sur la survie globale. Ces résultats posent la question de l'efficacité du nivolumab chez des patients présentant une réponse inflammatoire avec une prédominance de PNN.

Mots-clés : cancer bronchique non à petites cellules, neutrophile-lymphocyte ratio, immunothérapie, facteur pronostic

The evolution of the Neutrophil Lymphocyte ratio is an independent prognostic factor under nivolumab for Metastatic NSCLC

Objectives : Nivolumab proved better outcomes compared to chemotherapy as second line systemic treatment in Non Small Cell Lung Cancer (NSCLC). However, this treatment is expensive and only a minority of patients seem to benefit with patients presenting an early progression of their tumor after nivolumab's start. An important host inflammation, characterised with biomarkers like the neutrophil lymphocyte ratio, have proven their impact on overall survival in patients treated by surgery, chemotherapy and immunotherapy. Nonetheless, none of the previous studies have analyzed the impact of nivolumab on the host inflammation by analysing the evolution of such markers. Especially since nivolumab's activity is mainly done by lymphocyte re-activation.

Methods : We reviewed the medical records of all patients treated at the University of Bordeaux and Limoges and selected patients whether progressors after only 4 injections of nivolumab or responders during at least a year. Clinical parameters prior to nivolumab therapy and haematological data at pretreatment and 4th injections were collected in order to calculate Δ NLR, difference between NLR at the 4th and the 1st injection. The combined impact of the differents known prognostic factors were analyzed with multivariable regressions.

Results: 59 patients were included. We witnessed a significantly higher amount of Δ NLR>1 in the early progressors populations ($p=0,0007$), OR=18.08 (IC95%(2.96-246.24) with regression disease as best response to prior line of treatment ($p=0,0014$). Δ NLR<1 had a positive impact on the OS (HR=0.001 IC95% (0.0007-0.18), $p=0.001$); as well as a partial response to prior line of systemic treatment (HR=0.14, IC95%(0.03-0.56), $p=0.005$).

Conclusion: In a selected cohort of early progressors and long responders, partial response to prior treatment and Δ NLR<1 characterized the long responders and had a positive impact on the OS after the start of nivolumab. This phenomenon questions the efficiency of this in patients with a major neutrophil host inflammation.

Keywords : Non small cell lung cancer, immunotherapy, neutrophil lymphocyte ratio, prognostic marker

