

ANNEE 2023

N°

**PROFILAGE GENOMIQUE EXTENSIF
A PROPOS D'UNE SERIE PRELIMINAIRE DE 26 CARCINOMES BRONCHO-PULMONAIRES NON A
PETITES CELLULES NON-EPIDERMOÏDES PD-L1 $\geq$ 50%**

***COMPREHENSIVE GENOMIC PROFILING
A PRELIMINARY STUDY OF 26 CASES OF NON-SQUAMOUS NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA PD-L1
 $\geq$ 50%***

THESE
Présentée

à l'UFR des Sciences de Santé de Dijon
Circonscription Médecine

et soutenue publiquement le 28 avril 2023

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par Basile CHALOT
Née le 16 avril 1993
A ROUEN (76)

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à la disposition de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur.

Ceci implique une obligation de citation et de référencement dans la rédaction de vos travaux.

D'autre part, toutes contrefaçons, plagiat, reproductions illicites encourrent une poursuite pénale.

De juridiction constante, en s'appropriant tout ou partie d'une œuvre pour l'intégrer dans son propre document, l'étudiant se rend coupable d'un délit de contrefaçon (au sens de l'article L.335.1 et suivants du code de la propriété intellectuelle). Ce délit est dès lors constitutif d'une fraude pouvant donner lieu à des poursuites pénales conformément à la loi du 23 décembre 1901 dite de répression des fraudes dans les examens et concours publics.

ANNEE 2023

N°

**PROFILAGE GENOMIQUE EXTENSIF
A PROPOS D'UNE SERIE PRELIMINAIRE DE 26 CARCINOMES BRONCHO-PULMONAIRES NON A
PETITES CELLULES NON-EPIDERMOÏDES PD-L1 $\geq$ 50%**

***COMPREHENSIVE GENOMIC PROFILING
A PRELIMINARY STUDY OF 26 CASES OF NON-SQUAMOUS NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA PD-L1
 $\geq$ 50%***

THESE
Présentée

à l'UFR des Sciences de Santé de Dijon
Circonscription Médecine

et soutenue publiquement le 28 avril 2023

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par Basile CHALOT
Née le 16 avril 1993
A ROUEN (76)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

			Discipline
M.	Jean-Louis	ALBERINI	Biophysiques et médecine nucléaire
M.	Sylvain	AUDIA	Médecine interne
M.	Marc	BARDOU	Pharmacologie clinique
M.	Jean-Noël	BASTIE	Hématologie - transfusion
M.	Emmanuel	BAULOT	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M.	Christophe	BEDANE	Dermato-vénéréologie
M.	Yannick	BEJOT	Neurologie
M.	Moncef	BERHOUMA	Neurochirurgie
Mme	Christine	BINQUET	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M.	Philippe	BONNIAUD	Pneumologie
M.	Alain	BONNIN	Parasitologie et mycologie
M.	Bernard	BONNOTTE	Immunologie
M.	Olivier	BOUCHOT	Chirurgie cardiovasculaire et thoracique
M.	Belaid	BOUHEMAD	Anesthésiologie - réanimation chirurgicale
M.	Benjamin	BOUILLET	Endocrinologie
M.	Alexis	BOZORG-GRAYELI	Oto-Rhino-Laryngologie
Mme	Marie-Claude	BRINDISI	Nutrition
M.	Alain	BRON	Ophtalmologie
Mme	Mary	CALLANAN (WILSON)	Hématologie type biologique
M.	Patrick	CALLIER	Génétique
Mme	Catherine	CHAMARD-NEUWIRTH	Bactériologie - virologie; hygiène hospitalière
M.	Pierre-Emmanuel	CHARLES	Réanimation
M.	Jean-Christophe	CHAUVET-GELINIER	Psychiatrie d'adultes, Addictologie
M.	Nicolas	CHEYNEL	Anatomie
M.	Alexandre	COCHET	Biophysique et médecine nucléaire
M.	Luc	CORMIER	Urologie
M.	Yves	COTTIN	Cardiologie
M.	Charles	COUTANT	Gynécologie-obstétrique
Mme	Catherine	CREUZOT-GARCHER	Ophtalmologie
M.	Frédéric	DALLE	Parasitologie et mycologie
M.	Alexis	DE ROUGEMONT	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
M.	Hervé	DEVILLIERS	Médecine interne
Mme	Laurence	DUVILLARD	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Olivier	FACY	Chirurgie générale
Mme	Laurence	FAIVRE-OLIVIER	Génétique médicale
Mme	Patricia	FAUQUE	Biologie et Médecine du Développement
Mme	Irène	FRANCOIS-PURSSELL	Médecine légale et droit de la santé
Mme	Marjolaine	GEORGES	Pneumologie
M.	François	GHIRINGHELLI	Cancérologie
M.	Charles	GUENANCIA	Physiologie
M.	Pierre Grégoire	GUINOT	Anesthésiologie – réanimation chirurgicale
M.	Frédéric	HUET	Pédiatrie
Mme	Agnès	JACQUIN	Physiologie
M.	Pierre	JOUANNY	Gériatrie
M.	Philippe	KADHEL	Gynécologie-obstétrique
M.	Sylvain	LADOIRE	Histologie
M.	Gabriel	LAURENT	Cardiologie
M.	Côme	LEPAGE	Hépto-gastroentérologie

M.	Romarc	LOFFROY	Radiologie et imagerie médicale
M.	Luc	LORGIS	Cardiologie
M.	Jean-Francis	MAILLEFERT	Rhumatologie
M.	Cyriaque Patrick	MANCKOUNDIA	Gériatrie
M.	Sylvain	MANFREDI	Hépatogastroentérologie
M.	Laurent	MARTIN	Anatomie et cytologie pathologiques
M.	David	MASSON	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Marc	MAYNADIÉ	Hématologie – transfusion
M.	Marco	MIDULLA	Radiologie et imagerie médicale
M.	Thibault	MOREAU	Neurologie
Mme	Christiane	MOUSSON	Néphrologie
M.	Paul	ORNETTI	Rhumatologie
M.	Pablo	ORTEGA-DEBALLON	Chirurgie Générale
M.	Pierre Benoit	PAGES	Chirurgie thoracique et vasculaire
M.	Jean-Michel	PETIT	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
M.	Christophe	PHILIPPE	Génétique
M.	Lionel	PIROTH	Maladies infectieuses
Mme	Catherine	QUANTIN	Biostatistiques, informatique médicale
M.	Jean-Pierre	QUENOT	Réanimation
M.	Patrick	RAT	Chirurgie générale
M.	Patrick	RAY	Médecine d'urgence
M.	Jean-Michel	REBIBOU	Néphrologie
M.	Frédéric	RICOLFI	Radiologie et imagerie médicale
M	Maxime	SAMSON	Médecine interne
M.	Emmanuel	SAPIN	Chirurgie Infantile
M.	Emmanuel	SIMON	Gynécologie-obstétrique
M.	Éric	STEINMETZ	Chirurgie vasculaire
Mme	Christel	THAUVIN	Génétique
M.	Benoit	TROJAK	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
M.	Gilles	TRUC	Oncologie-Radiothérapie
M.	Pierre	VABRES	Dermato-vénéréologie
(Mission temporaire à Londres du 01/09/2021 au 31/08/2023)			
M.	Bruno	VERGÈS	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
M.	Narcisse	ZWETYENGA	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

PROFESSEURS EMERITES

M.	Laurent	BEDENNE	(01/09/2021 au 31/08/2024)
M.	Jean-François	BESANCENOT	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Bernard	BONIN	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Laurent	BRONDEL	(01/09/2021 au 31/08/2024)
M.	François	BRUNOTTE	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Jean-Marie	CASILLAS-GIL	(01/09/2020 au 31/08/2023)
M.	Pascal	CHAVANET	(01/09/2021 au 31/08/2024)
M.	Jean-Pierre	DIDIER	(01/11/2021 au 31/10/2024)
M.	Serge	DOUVIER	(15/12/2020 au 14/12/2023)
M.	Maurice	GIROUD	(01/09/2022 au 31/12/2025)
M.	Paul	SAGOT	(02/11/2022 au 31/10/2025)
M.	Pierre	TROUILLOUD	(01/09/2020 au 31/08/2023)

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES MEDICALES

			Discipline Universitaire
Mme	Lucie	AMOUREUX BOYER	Bactériologie
Mme	Julie	BARBERET	Biologie et médecine du développement et de la reproduction- gynécologie médicale
Mme	Louise	BASMACIYAN	Parasitologie-mycologie
Mme	Shaliha	BECHOUA	Biologie et médecine du développement
M.	Guillaume	BELTRAMO	Pneumologie
M.	Mathieu	BLOT	Maladies infectieuses
Mme	Marie-Lorraine	CHRETIEN	Hématologie
Mme	Vanessa	COTTET	Nutrition
M.	Damien	DENIMAL	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Valentin	DERANGERE	Histologie
Mme	Ségolène	GAMBERT	Biochimie et biologie moléculaire
Mme	Françoise	GOIRAND	Pharmacologie fondamentale
M.	David	GUILLIER	Anatomie, chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brulologie
M.	Alain	LALANDE	Biophysique et médecine nucléaire
Mme	Stéphanie	LEMAIRE-EWING	Biochimie et biologie moléculaire
Mme	Anne-Sophie	MARIET	Biostatistiques, informatique médicale
M.	Pierre	MARTZ	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M.	Thomas	MOUILLOT	Physiologie
M.	Alain	PUTOT	Gériatrie
			(Disponibilité pour convenances personnelles)
Mme	Claire	TINEL	Néphrologie
M.	Antonio	VITOBELLO	Génétique
M.	Paul-Mickaël	WALKER	Biophysique et médecine nucléaire

PROFESSEUR ASSOCIE DES DISCIPLINES MEDICALES

M.	Ludwig Serge	AHO GLELE	Hygiène hospitalière
M.	Victorin	AHOSSI	Odontologie
M.	Jacques	BEURAIN	Neurochirurgie
M.	Jean-Michel	PINOIT	Pédopsychiatrie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

Mme	Katia	MAZALOVIC	Médecine Générale
Mme	Claire	ZABAWA	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

M.	Clément	CHARRA	Médecine Générale
M.	Arnaud	GOUGET	Médecine Générale
M.	François	MORLON	Médecine Générale
M.	Rémi	DURAND	Médecine Générale
Mme	Anne	WALDNER	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

M.	Jérôme	BEAUGRAND	Médecine Générale
M.	Benoît	DAUTRICHE	Médecine Générale
M.	Alexandre	DELESVAUX	Médecine Générale
M.	Olivier	MAIZIERES	Médecine Générale
Mme	Ludivine	ROSSIN	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme	Anaïs	CARNET	Anglais
Mme	Catherine	LEJEUNE	Pôle Epidémiologie
M.	Gaëtan	JEGO	Biologie Cellulaire

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mme	Marianne	ZELLER	Physiologie
-----	----------	---------------	-------------

PROFESSEURS AGREGES de L'ENSEIGNEMENT SECONDAIRE

Mme	Marceline	EVRARD	Anglais
Mme	Lucie	MAILLARD	Anglais

PROFESSEUR CERTIFIE

M.	Philippe	DE LA GRANGE	Anglais
----	----------	---------------------	---------

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

M.	Mathieu	BOULIN	Pharmacie clinique
M.	François	GIRODON	Sciences biologiques, fondamentales et cliniques
Mme	Evelyne	KOHLI	Immunologie
M.	Antonin	SCHMITT	Pharmacologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme	Amélie	CRANSAC	Pharmacie clinique
M.	Philippe	FAGNONI	Pharmacie clinique
M.	Marc	SAUTOUR	Botanique et cryptogamie

L'UFR des Sciences de Santé de Dijon, Circonscription Médecine, déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ne leur donner ni approbation, ni improbation.

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Laurent MARTIN

Membres : Monsieur le Professeur Patrick CALLIER

Monsieur le Docteur Pascal FOUCHER

Monsieur le Docteur Benjamin TOURNIER

SERMENT D'HIPPOCRATE

"Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité.

Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

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

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

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera.

Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

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

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

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

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

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

Remerciements

A mon Président et directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Laurent MARTIN

Vous m'avez fait l'honneur de me confier ce travail et de présider ce jury de thèse.
Je vous suis reconnaissant pour votre bienveillance, votre disponibilité et votre apprentissage dispensé durant ces années d'internat.
Veuillez recevoir mes plus sincères remerciements et mon plus profond respect.

Aux membres du jury,

Monsieur le Professeur Patrick CALLIER

Vous me faites l'honneur de compter parmi les membres de ce jury. Je vous remercie d'avoir accepté d'en faire partie, ainsi que de votre accueil chaleureux et de votre enseignement durant le semestre passé dans votre service.
Veuillez recevoir l'expression de ma sincère gratitude.

Monsieur le Docteur Pascal FOUCHER

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté de juger ce travail de thèse. Je vous remercie pour votre intérêt et pour votre expertise en oncologie.
Veuillez trouver l'expression de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Benjamin TOURNIER

Vous me faites l'honneur de siéger au sein de ce jury. Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce travail de thèse ainsi que pour les nombreux conseils dispensés durant le semestre passé à vos côtés.
Veuillez recevoir l'expression de ma sincère gratitude.

Mes remerciements vont également :

A l'équipe du service de pathologie du CHU de Dijon,

Merci à Alice, Catherine, Fara, Georges, Haingo, Marie-Hélène et Mathilde pour votre enseignement, vos conseils et leur patience durant ces années d'internat. C'est un réel plaisir d'apprendre avec vous.

Merci à Anthony, Camille, Romain pour votre aide précieuse et vos conseils. A Selim et tes « convocations » dans ton bureau pour me montrer la dernière bande-annonce de Dune !

Sans oublier l'équipe technique, merci de votre implication dans la formation des internes et votre disponibilité.

A l'équipe de Cypath,

Merci à Anthony, Charles-Henry, Dominique, Émilie, Françoise, Franck, Gilles et Tibor pour votre accueil chaleureux, et pour toutes ces journées où vous avez pris le temps de partager vos connaissances dans la bonne humeur mais également de discuter pour me donner des conseils.

Je remercie l'équipe paramédicale, en particulier Angela, Brice et Delphine pour ces après-midi passées en macroscopie avec bonne humeur (surtout toi Brice !)

A l'équipe du service de biologie moléculaire du CHU,

Merci à toute l'équipe sans qui ce travail n'aurait pas été possible ! Un grand merci à Alicia, Manon, Lyse-Marie, Nadège, Joséphine, Célia et Caroline de m'avoir accueilli aussi chaleureusement et de m'avoir enseigné les rudiments du maniement de la pipette ! J'espère avoir été un bon « bébé canard » et avoir pu vous aider au maximum.

Au service de génétique chromosomique et moléculaire du CHU de Dijon,

Je remercie Anne-Laure, Nathalie et toute l'équipe de génétique chromosomique et moléculaire pour ce premier semestre et cette initiation au tri des chromosomes et à l'interprétation des CGH et des PCR. Un remerciement spécial à Jérôme, jamais avare de conseils tout en distillant quelques blagues douteuses dont il a le secret !

Au service de génétique clinique du CHU de Dijon,

Merci à toute l'équipe de génétique clinique du CHU de Dijon, que ce soit pour la partie médicale (Laurence, Christel, Sébastien, Sophie, Anne-Sophie et Marie), ou pour les conseillers en génétique (Geoffrey, Marion, Caroline...). J'ai beaucoup appris à grâce à vous !

Au service de soins de suite et de réadaptation neurologique du CHU de Dijon,

Que de péripéties passées durant ce semestre rallongé ! Entre les tableaux cliniques parfois surprenants, le lobbying intense en faveur du marché du bonheur et l'arrivée de la covid, il n'aura pas été de tout repos. Un grand merci à Anne, Sylvain, Audrey et Marion, ce fut un réel plaisir de travailler avec vous. Vous faites vraiment une belle spécialité.

A mes co-internes de stage d'Anapath,

Merci à tous mes co-internes, d'Anapath ou non, pour les semestres passés à vos côtés, les longues journées passées en macroscopie et les discussions animées du midi. Je vous souhaite à tous et toutes le meilleur !

A mes anciens co-internes et jeunes chefs de génétique,

A tous mes anciens co-internes des 4 coins de France rencontrés au décours de cours de DES, de congrès... Et surtout des nombreux airbnb réservés à plusieurs et des soirées qui allaient avec ! Une pensée spéciale à Caroline (mon binôme de choc !), Simon et Fred.

A mes amis,

Merci à tous mes amis rencontrés au lycée ou sur les bancs de la fac, et de tous les bons moments passés ensemble. A tous ces « pre-before pâtes » qui dureraient bien plus longtemps qu'initialement prévu ! A toutes ces rencontres parfois rocambolesques (je pense à toi Pierre !), aux surveillances de colles et aux différents week-end et voyages passés ensemble ! Il a été plus compliqué de se voir ces dernières années mais j'espère bien rattraper ça !

A ma famille,

Merci de votre soutien, de votre amour et pour tout ce que vous m'avez apportés. J'ai vraiment de la chance de vous avoir. Votre présence, que ce soit dans les bons comme dans les mauvais moments a toujours été primordiale. Cette réussite je vous la dois énormément. Encore merci pour tout !

A Céline,

Bien entendu je devais terminer par toi. Je ne pense pas pouvoir trouver de mot assez fort pour t'exprimer la gratitude que j'ai de t'avoir à mes côtés depuis maintenant bientôt 9 ans. Merci pour tous ces moments d'apparence simple, mais dont ta présence suffit à rendre exceptionnels. Tu connais également mon attachement.

Table des matières

Table des tableaux et figures.....	13
Liste des abréviations.....	15
Introduction générale	17
Article	58
Abstract	59
Introduction	60
Materials and methods	62
Study design and case selection.....	62
Patient and tumor data	63
Extraction of nucleic acids.....	63
Avenio CGP Panel Sequencing.....	63
Routine NGS	64
Molecular data classification.....	64
Results	65
Clinical, pathological and molecular characteristics of patients and tumors	65
Concordance between CGP and STS panels.....	65
TMB	67
Response to immunotherapy in monotherapy	68
Discussion	69
Conclusion	71
References	73
Supplementary data.....	76

Table des tableaux et figures

Figures de l'introduction générale

Figure 1 : Incidence et mortalité par cancer dans le monde en 2020	18
Figure 2 : Comparaison morphologique des carcinomes neuro-endocrines à petites cellules et à grandes cellules.....	20
Figure 3 : Exemples d'architectures des adénocarcinome pulmonaires	20
Figure 4 : Comparaison morphologique entre un carcinome épidermoïde pulmonaire kératinisant et un adénocarcinome pulmonaire non-mucineux d'architecture solide.....	21
Figure 5 : classification TNM des CBP selon l'UICC	23
Figure 6 : Stades cliniques des CBP selon l'UICC.....	24
Figure 7 : Schéma résumant l'action d'une altération moléculaire « driver »	26
Figure 8 : Profil moléculaire des adénocarcinomes pulmonaires non-mucineux et mucineux	27
Figure 9 : Répartition des mutations activatrices et de résistance connues de l' <i>EGFR</i>	28
Figure 10 : Activation des voies moléculaires en aval d' <i>EGFR</i> et autres récepteur ERBB	30
Figure 11 : Schéma de la translocation EML4-ALK.....	31
Figure 12 : Le cycle « cancer-immunité »	34
Figure 13 : Schéma récapitulatif des différents mécanismes de régulation positive et négative de l'activation lymphocytaire	35
Figure 14 : Inhibition de l'activation du LT CD8+ cytotoxique par PD-L1	36
Figure 15 : Deux principaux mécanismes d'expression de PD-L1 par les cellules tumorales..	37
Figure 16 : Profils de micro-environnements tumoraux selon Teng et al	37
Figure 17 : Schéma récapitulatif du calcul du score TPS.....	40
Figure 18 : Exemple de marquage PD-L1	40
Figure 19 : Spectre de la TMB selon les types tumoraux et de la formation de néo-antigènes.	42
Figure 20 : Arbre décisionnel des biomarqueurs nécessaires au traitement des patients atteints de CBNPC selon l'INCA	47

Tableaux de l'introduction générale

Tableau 1 : Classification OMS 5e édition des carcinomes invasifs broncho-pulmonaires 22

Tableau 2 : Résumé des anomalies moléculaires à rechercher au stade métastatique des CBNPC non épidermoïdes du patient fumeur selon l'INCA 46

Tableaux et figures de l'article

Figures

Figure 1 : Flowchart of sample enrolled in this study and reasons for exclusion..... 62

Figure 2 : Correlation curve between the allele frequencies of variants identified by the Avenio CGP test and the routine DNA panel 66

Figure 3 : Correlation curve between the tumor cellularity percentages of the nucleic acid extractions used by the Avenio CGP test and the routine DNA panel..... 66

Tables

Table 1. Characteristics of patients and tumors.. 65

Table 2 : Clinical, pathological and molecular characteristics of patients according to their TMB.. 67

Table 3 : Clinical, pathological and molecular characteristics of patients according to their response to immunotherapy..... 68

Supplementary data

Appendix 1 : List of genes selected in the Avenio CGP panel for the detection of substitutions, insertion-deletions or CNAs 76

Appendix 2 : List of genes selected in the Avenio CGP panel for the detection of gene rearrangements, substitution in a promoter region, and non-coding RNA gene..... 76

Appendix 3 : Genes included in the routine DNA (STS) and RNA (STSplus) NGS panel 77

Appendix 4 : Concordance between routine DNA NGS panel and the Avenio CGP panel..... 78

Liste des abréviations

- AAP** : Autorisation d'Accès Précoce
- ALK** : Anaplastic Lymphoma Kinase
- ATU** : Autorisation Temporaire d'Utilisation
- BRAF** : V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
- CBP** : Cancer Broncho-Pulmonaire
- CBNPC** : Carcinome Broncho-Pulmonaire Non à Petites Cellules
- CGP** : Comprehensive Genomic Profiling
- CTLA4** : Cytotoxic T-lymphocyte associated Antigen 4
- CE** : Carcinome Épidermoïde
- CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
- CPA** : Cellule Presentative d'Antigène
- EGFR** : Epidermal Growth Factor Receptor
- EML4** : Echinoderm Microtubule-associated protein-Like 4
- FFPE** : *Formalin-Fixed Paraffin*-Embedded
- FISH** : Hybridation Fluorescente In Situ
- HER2** : human epidermal growth factor receptor 2
- HGF** : Facteur de croissance des hépatocytes
- ICAM-1** : intracellular cell adhesion molecule-1
- INCA** : Institut National du Cancer
- ITK** : Inhibiteur de Tyrosine Kinase
- KRAS** : Kirsten Rat Sarcoma virus
- LT** : lymphocytes T
- MET** : MET Proto-Oncogene
- NGS** : Next Generation Sequencing
- NTRK** : Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase

OS : survie globale

PCI : Point de Contrôle Immunitaire

PD-1 : Programmed cell Death protein 1

PD-L1 : Programmed Death Ligand 1

PFS : Survie Sans Progression

PS : Performans Status

RET : Rearranged during transfection

ROS1 : *c-Ros oncogene 1*

RTU : Recommandation temporaire d'utilisation

TIL : lymphocytes infiltrant la tumeur

TMB : charge mutationnelle tumorale

TNM : Tumor Node Metastasis

TPS : Tumor Proportion Score

TTF1 : Thyroid transcription factor-1

UICC : Union for International Cancer Control

VCAM-1 : vascular cell adhesion molecule-1

VEGF : Vascular Epithelial Growth Factor

WES : séquençage de l'exome entier

Introduction générale

Cancer broncho-pulmonaire

Épidémiologie

Le cancer broncho-pulmonaire (CBP) reste encore de nos jours un problème majeur de santé publique avec 2,2 millions de cas diagnostiqués et 1,8 millions de décès dans le monde en 2020 selon l'OMS. Tous genres confondus, il s'agit du second cancer le plus fréquent après le cancer du sein féminin (Figure 1) et reste le cancer le plus meurtrier : il est responsable de quasiment un décès sur cinq lié au cancer (18% des décès). (1)

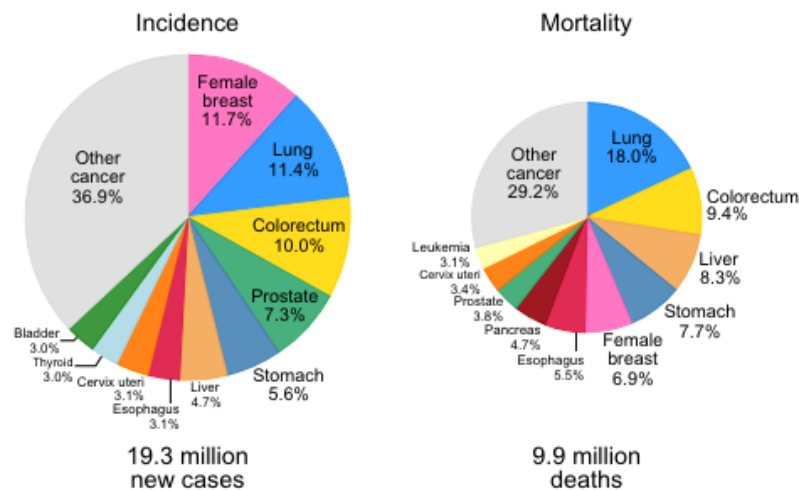


Figure 1 : Incidence et mortalité par cancer dans le monde en 2020 [selon Sung et al.(1)]

En France, l'incidence du CBP est estimée à 46 363 cas en 2018, dont 67% des cas survenant chez l'homme. Il s'agit ainsi du 3^e cancer le plus fréquent chez la femme, et du 2^e le plus fréquent chez l'homme. Tandis que son incidence est globalement stable chez l'homme, voire en discrète diminution depuis 1990 (- 0,1 % par an sur la période 1990-2018), il connaît une augmentation importante chez la femme (+ 5,3% par an sur cette même période)(2).

Facteurs de risques

Le tabagisme actif est le principal facteur de risque de CBP, responsable à lui seul de 83% des cas chez l'homme et de 69% des cas chez la femme. Il multiplierait par au moins 10 à 15 le risque de développer un CBP. Ce risque diminue à l'arrêt du tabac, mais reste plus élevé que chez un non-fumeur (3).

D'autres facteurs de risque sont également connus. Il s'agit pour les principaux du tabagisme passif (4), de l'exposition à des carcinogènes professionnels (amiante (5), métaux lourds (6)...), du radon (7) ou encore de la pollution atmosphérique (8).

Classification histologique

Il existe différents types histologiques de CBP, décrits dans la 5^e édition de la classification OMS des tumeurs thoraciques (9). Les tumeurs de type épithélial représentent l'immense majorité. Elles sont historiquement séparées en deux groupes distincts qui résultent en des prises en charge différentes :

- Les carcinomes à petites cellules (CBPC) qui comprennent uniquement les carcinomes neuroendocrines à petites cellules.
- Les carcinomes non à petites cellules (CBNPC) qui correspondent aux autres carcinomes pulmonaires, incluant pour les plus fréquents les adénocarcinomes, les carcinomes épidermoïdes, les carcinomes à grandes cellules et les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules.

Le carcinome neuroendocrine à petites cellules est une tumeur à différenciation neuroendocrine de haut grade et de mauvais pronostic. Il représente environ 15% de l'ensemble des CBP. C'est un cancer particulièrement lié au tabac, avec seulement de très rares cas reportés chez le non fumeur (10). Sur le plan histologique, il correspond à une prolifération de cellules tumorales de petite taille (inférieure à 3 fois la taille d'un lymphocyte) au cytoplasme indistinct et possédant un noyau à la chromatine dite « poivre et sel » dissimulant le nucléole. Les mitoses sont très nombreuses (cut-off diagnostic défini à > 10 mitoses/ 2 mm^2 mais très largement supérieur en général avec une médiane de 80 mitoses/ 2 mm^2), ainsi que des plages de nécrose tumorale. Sauf exception, les cellules tumorales expriment au moins l'un des marqueurs neuroendocrines suivants : synaptophysine, chromogranine A, CD56 ou INSM1.

Le carcinome neuroendocrine à grandes cellules est également une tumeur neuroendocrine pulmonaire de haut grade. Il est moins fréquent que le carcinome neuroendocrine à petites cellules (3% des CBP). Il correspond à une prolifération de cellules neuroendocrines fortement mitotiques (cut-off diagnostic > 10 mitoses/ 2 mm^2), fréquemment nécrotique et devant exprimer au moins un marqueur neuroendocrine. A la différence du carcinome neuroendocrine à petites cellules, les cellules sont de grande taille (> 3 fois la taille d'un lymphocyte), au cytoplasme abondant et munies d'un noyau nucléolé et/ou vésiculeux (Figure 2).

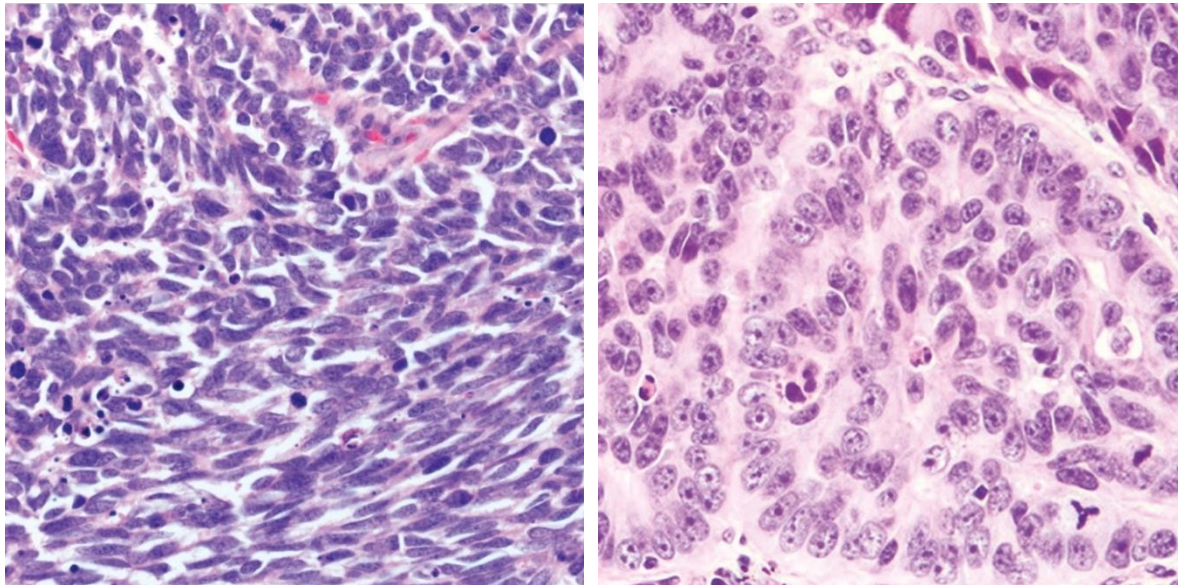


Figure 2. Comparaison morphologique des carcinomes neuro-endocrines à petites cellules (à gauche) et à grandes cellules (à droite) [tirée de (9)]

L'adénocarcinome pulmonaire est un cancer développé à partir des pneumocytes. Il s'agit du type histologique le plus fréquent (54% des CBP en France en 2018)(2), en particulier chez les non-fumeurs et la femme (11). Sur le plan histologique, les adénocarcinomes non-mucineux sont des cancers définis par la présence d'une différenciation glandulaire et/ou par l'expression d'un marqueur immunohistochimique pulmonaire (TTF1 ou napsin A). Cette tumeur peut présenter différents aspects en fonction des architectures tumorales variées : lépidique, acinaire, papillaire, micropapillaire, cribriforme ou solide (Figure 3). D'autres sous-types histologiques sont plus rarement rencontrés. Il s'agit des adénocarcinomes mucineux, colloïde, fœtal ou de type entérique.

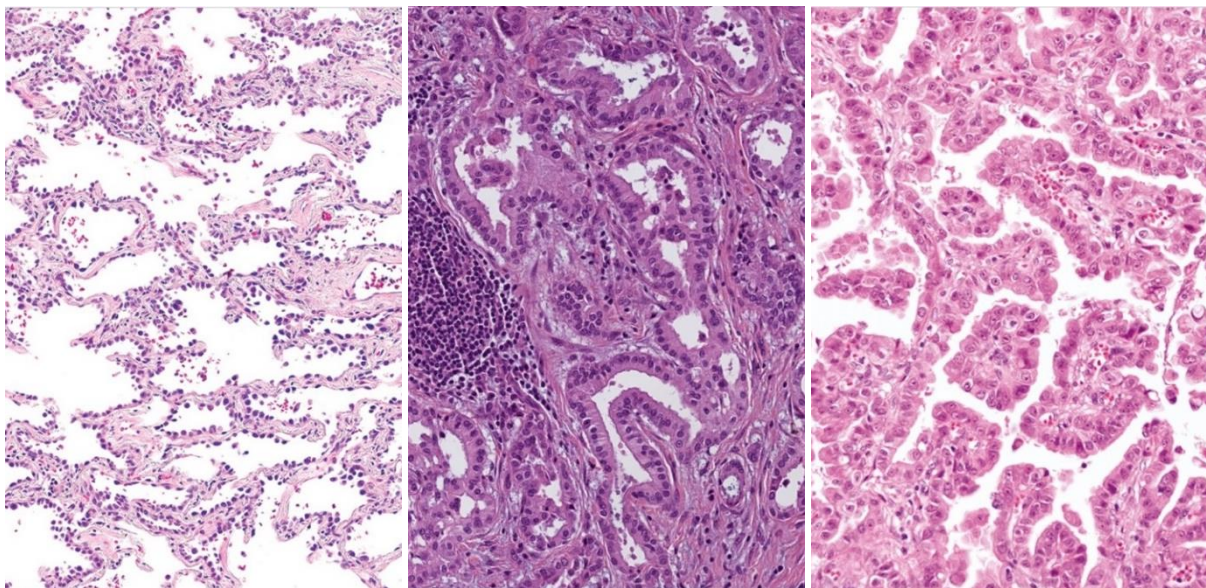


Figure 3 : Exemples d'architectures des adénocarcinome pulmonaires (tirés de (9))
Gauche – Architecture lépidique ; Milieu – Architecture acinaire ; Droite – Architecture papillaire

Le carcinome épidermoïde pulmonaire est le second type histologique le plus courant, représentant près de 20% des CBP. Ces tumeurs, associées au tabagisme, naissent à partir de lésions de métaplasie malpighienne développées au dépend de l'épithélium respiratoire bronchique. Son diagnostic nécessite la présence de caractéristiques morphologiques malpighiennes (présence de ponts d'union intercellulaires ou de kératinisation) (Figure 4) ou bien, pour les formes les moins différenciées, de la mise en évidence immunohistochimique d'un marqueur malpighien (en particulier P40) sans expression de TTF1.

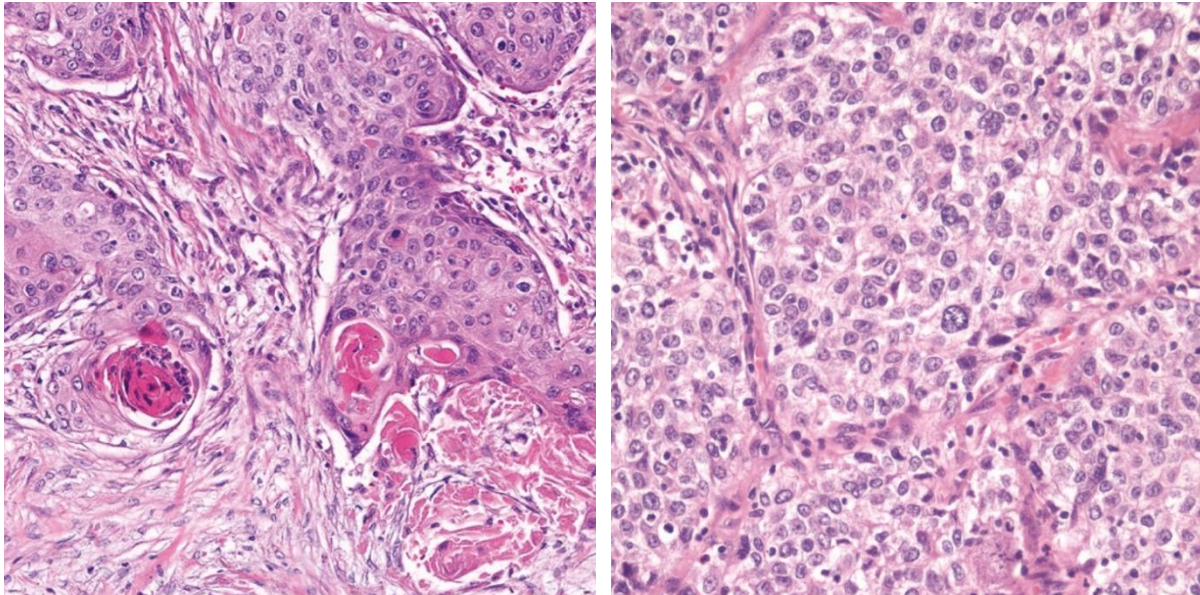


Figure 4. Comparaison morphologique entre un carcinome épidermoïde pulmonaire kératinisant (gauche) et un adénocarcinome pulmonaire non-mucineux d'architecture solide (droite) [tirés de (9)]

Le carcinome pulmonaire à grandes cellules est rare, représentant 1,5% des CBP. Il correspond à un carcinome peu différencié, dépourvu de critère morphologique ou immunohistochimique de différenciation glandulaire, malpighienne ou neuroendocrine après examen de la totalité de la tumeur. Il s'agit donc d'un diagnostic d'élimination qui ne peut être porté que sur les pièces d'exérèse chirurgicales.

Les autres carcinomes pulmonaires sont le carcinome adéno-squameux (correspondant à un carcinome comprenant un contingent adénocarcinomateux et un contingent épidermoïde, chacun représentant > 10% de la tumeur), le groupe des carcinomes sarcomatoïdes, le groupe des tumeurs de type « glandes salivaires » (morphologie proche des tumeurs des glandes salivaires) et les carcinomes dits « inclassés ».

Type histologique	Sous-type histologique
Adénocarcinomes	Adénocarcinome non-mucineux lépidique
	Adénocarcinome non-mucineux acinaire
	Adénocarcinome non-mucineux papillaire
	Adénocarcinome non-mucineux micropapillaire
	Adénocarcinome non-mucineux solide
	Adénocarcinome mucineux
	Adénocarcinome colloïde
	Adénocarcinome fœtal
	Adénocarcinome entérique
Carcinomes épidermoïdes	Carcinome épidermoïde kératinisant
	Carcinome épidermoïde non kératinisant
	Carcinome épidermoïde basaloïde
	Carcinome lympho-épithélial
Carcinomes neuroendocrines	Carcinome neuroendocrine à petites cellules (et formes mixtes)
	Carcinome neuroendocrine à grandes cellules (et formes mixtes)
Carcinome adénoquameux	
Carcinome à grandes cellules	
Carcinomes sarcomatoïdes	Carcinome pléomorphe
	Carcinome à cellules géantes
	Carcinome à cellules fusiformes
	Blastome pulmonaire
	Carcinosarcome
Tumeurs de type « glandes salivaires »	Adénome pléomorphe
	Carcinome adénoïde-kystique
	Carcinome épithélial-myoépithélial
	Carcinome muco-épidermoïde
	Carcinome hyalinisant à cellules claires
	Myo-épithéliome
	Carcinome myoépithélial
Autres carcinomes	Carcinome NUT
	Carcinome thoracique indifférencié SMARCA4-déficient

Tableau 1. Classification OMS 5e édition des carcinomes invasifs broncho-pulmonaires [adapté de la 5^e édition de la classification OMS des tumeurs thoraciques (9)]

Prise en charge thérapeutique

La prise en charge des CBNPC est déterminée en fonction de l'état général du patient [évalué selon le « performans status » (PS)], du stade de la maladie déterminé selon la classification TNM de l'Union for International Cancer Control (UICC) [Figure 5 et 6]), du type histologique de la tumeur et de ses caractéristiques moléculaires (12).

T - Tumeur	Tx	Tumeur primaire non connue ou tumeur prouvée par la présence de cellules malignes dans les sécrétions broncho-pulmonaires mais non visible aux examens radiologiques et endoscopiques.
	T0	Absence de tumeur identifiable.
	Tis	Carcinome <i>in situ</i> .
	T1	Tumeur de 3 cm ou moins dans ses plus grandes dimensions, entourée par du poumon ou de la plèvre viscérale, sans évidence d'invasion plus proximale que les bronches lobaires à la bronchoscopie (c'est-à-dire pas dans les bronches souches).
	T1a(mi)	Adénocarcinome minimalement-invasif
	T1a	≤ 1cm
	T1b	> 1 cm et ≤ 2 cm
	T1c	> 2 cm et ≤ 3 cm
	T2	Tumeur de plus de 3 cm, mais de moins de 5 cm OU avec un quelconque des éléments suivants -envahissement d'une bronche souche quelle que soit sa distance par rapport à la carène mais sans envahissement de la carène, -envahissement de la plèvre viscérale, -existence d'une atélectasie ou pneumonie obstructive
	T2a	> 3 cm mais ≤ 4 cm
	T2b	> 4 cm mais ≤ 5 cm
	T3	Tumeur de plus de 5 cm et de moins de 7 cm , OU associée à un(des) nodule(s) tumoral(aux) distinct(s) dans le même lobe, OU envahissant directement : -la paroi thoracique (incluant les tumeurs du sommet), -le nerf phrénique, -la plèvre pariétale ou le péricarde pariétal.
	T4	Tumeur de plus de 7 cm OU associée à des nodules tumoraux séparés dans deux lobes différents du même poumon, OU envahissant directement : -le médiastin, -le cœur ou les gros vaisseaux, -la trachée, ou la carène -le diaphragme, -le nerf récurrent, -l'œsophage, -un(des) corps vertébral(ux).
N - Adénopathies	Nx	Envahissement locorégional inconnu.
	N0	Absence de métastase dans les ganglions lymphatiques régionaux.
	N1	Métastases ganglionnaires péri-bronchiques homolatérales et/ou hilaires homolatérales incluant une extension directe.
	N2	Métastases dans les ganglions médiastinaux homolatéraux ou dans les ganglions sous-carénaux
	N3	Métastases ganglionnaires médiastinales controlatérales ou hilaires controlatérales ou scaléniques, sus-claviculaires homo- ou controlatérales.
Métastases	M0	Pas de métastase à distance.
	M1	Existence de métastases :
	M1a	Nodule(s) tumoral(ux) séparés dans un lobe controlatéral, ou nodules pleuraux ou pleurésie maligne ou péricardite maligne
	M1b	Une seule métastase extra-thoracique dans un seul organe
	M1c	Plusieurs métastases extrathoraciques dans un seul ou plusieurs organes

Figure 5. classification TNM des CBP selon l'UICC [figure tirée de Couraud et al (13)]

Patient éligible à une prise en charge chirurgicale

Les CBNPC à un stade précoce (stade I ou II) peuvent bénéficier d'une prise en charge curative chirurgicale avec réalisation d'un curage ganglionnaire complet qui est le traitement de référence. En cas de contre-indication de l'exérèse chirurgicale (pour cause de comorbidités ou autres), une radiothérapie est alors indiquée. (13,14)

Les CBPNP de stade II ou III post-opératoires (suite à la découverte d'un envahissement ganglionnaire tumoral per-opératoire ou lors de l'examen microscopique), sont également traités par un doublet de chimiothérapie adjuvante à base de sels de platine (13). La chimiothérapie adjuvante permet une augmentation de la survie globale à 5 ans de 4 à 5%. (15)

En cas de CBNPC localement avancé (stade III), la prise en charge dépendra de la résécabilité potentielle de la tumeur et pourra comprendre chirurgie, chimiothérapie ou radiochimiothérapie selon le tableau clinique. (14)

Enfin, pour les CBNPC avec mutation activatrice du gène codant pour le récepteur du facteur de croissance épidermique (*EGFR*) (délétion de l'exon 19 ou mutation L858R de l'exon 21), l'ERLOTINIB, un inhibiteur de tyrosine kinase (ITK) dirigé contre *EGFR* dispose depuis 2022 de l'AMM en situation adjuvante après résection tumorale complète (et après chimiothérapie si indiquée) d'un CBNPC de stade IB à IIIA. (16)

Il n'y a actuellement pas d'indication d'immunothérapie en péri-opératoire. Des études sont actuellement en cours sur ce sujet. (13,17)

Carcinome occulte	Tx N0 M0	Stade IIIA	T1,2 N2, M0
Stade 0	Tis N0 M0		T3 N1 M0
Stade IA-1	T1a(mi) N0 M0		T4 N0,1 M0
	T1a N0 M0	Stade IIIB	T1,2 N3 M0
Stade IA-2	T1b N0 M0		T3,4 N2 M0
Stade IA-3	T1c N0 M0	Stade IIIC	T3,4 N 3 M0
Stade IB	T2a N0 M0	Stade IV-A	Tout M1a
Stade IIA	T2b N0 M0		Tout M1b
Stade IIB	T1,2 N1 M0	Stade IV-B	Tout M1c
	T3 N0 M0		

	N0	N1	N2	N3	M1a-b Tout N	M1c Tout N
T1a	IA-1	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T1b	IA-2	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T1c	IA-3	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IV-A	IV-B
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IV-A	IV-B

Figure 6. Stades cliniques des CBP selon l'UICC [figure tirée de Couraud et al (13)]

Patient non-éligible à une prise en charge chirurgicale

En cas de CBNPC diagnostiqué à un stade métastatique (stade IV de la classification UICC), le patient relève d'une prise en charge uniquement systémique.

La présence d'une addiction oncogénique (mutation du gène *EGFR* ou réarrangement des gènes *ALK* ou *ROS1*) permet la prescription en 1ère ligne d'une thérapie ciblée, et ce quel que soit l'état général du patient du fait de leur très bonne tolérance.

En l'absence d'addiction oncogénique, la prise en charge dépend en grande partie de l'état général du patient et de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales (qui définit le Tumor Proportion Score ou TPS).

Si $PD-L1 < 50\%$, la prise en charge de 1^{ère} ligne recommandée depuis 2020 est l'association du PEMBROLIZUMAB avec :

- Pour un CBNPC non-épidermoïde : un doublet de chimiothérapie à base de sels de platine (CISPLATINE ou CARBOPLATINE) + PERMETREXED, suivi d'un traitement d'entretien. (13,18)
- Pour un CBNPC épidermoïde : un doublet de chimiothérapie comprenant CARBOPLATINE + PLACITAXEL ou NAB-PLACITAXEL, suivi d'un traitement d'entretien. (13,19)

Cette association du PEMBROLIZUMAB avec un doublet de chimiothérapie a permis d'améliorer la survie sans progression et la survie globale que ce soit pour les CBNPC non-épidermoïdes (20) ou épidermoïdes (21) par rapport au même doublet de chimiothérapie seul, quel que soit le statut PD-L1 de la tumeur.

Lorsque l'expression tumorale de PD-L1 est élevée ($TPS \geq 50\%$), le PEMBROLIZUMAB est le traitement de 1^{ère} intention des CBNPC épidermoïdes et non-épidermoïdes. (22)

Néanmoins, même si cette stratégie a montré sa supériorité par comparaison à un doublet de chimiothérapie en terme de survie sans progression et de survie globale (23), il est important de noter l'absence d'étude comparant de manière directe le PEMBROLIZUMAB en monothérapie et son association à un doublet de chimiothérapie. Cette absence de comparaison directe justifie la possibilité d'associer un doublet de chimiothérapie au PEMBROLIZUMAB dans cette situation. L'étude PERSEE est actuellement en cours pour comparer les deux stratégies. (24)

En cas d'état général dégradé (population gériatrique et/ou $PS \geq 3$), et d'absence d'addiction oncogénique, une prise en charge adaptée sera proposée. (12,13)

La prise en charge de 2^{ème} ligne dépend quant à elle du traitement reçu en 1^{ère} ligne. Il s'agit le plus fréquemment (12,13) :

- D'une immunothérapie par PEMBROLIZUMAB (si $TPS > 1\%$), ATEZOLIZUMAB ou NIVOLUMAB (quel que soit le score TPS), si le patient n'a pas reçu d'immunothérapie en 1^{ère} ligne.
- D'une chimiothérapie préférentiellement en doublet ou en monothérapie selon l'état clinique.

Ainsi, la prise en charge de CBNPC s'est complexifiée avec le développement de la connaissance des caractéristiques moléculaires de ces tumeurs. Définir le profil moléculaire tumoral est devenu indispensable à une prise en charge optimale, et ce dès la 1^{ère} ligne de traitement.

Anomalies moléculaires des CBNPC

Proto-oncogènes

Les progrès thérapeutiques réalisés ces dernières années dans la prise en charge des CBNPC sont largement attribuables à l'approfondissement des connaissances moléculaires, en particulier pour les adénocarcinomes, et de la mise en évidence des différents mécanismes intervenant dans le processus de cancérogenèse.

Une altération moléculaire dite « driver » oncogénique est un évènement moléculaire génétique (mutation, fusion de gènes, amplification...) entraînant une activation aberrante de voies moléculaires intracellulaires, favorisant la prolifération ainsi que la survie cellulaire et étant à l'origine du processus de cancérogenèse (Figure 7) (25). Ces anomalies « drivers » sont considérées comme mutuellement exclusives, c'est-à-dire que la présence de l'une au sein d'une tumeur élimine de principe la présence d'une autre (26). Des exceptions sont néanmoins parfois décrites (27).

Leur identification est particulièrement intéressante, car elle permet dans les cas où un traitement ciblé est disponible, de pouvoir agir directement sur le mécanisme à l'origine de la prolifération et de la survie des cellules tumorales. Ces traitements s'avèrent ainsi particulièrement efficaces et agissent directement sur les cellules tumorales (et non sur l'ensemble des cellules du patient). Ils présentent un bien meilleur profil de tolérance (28).

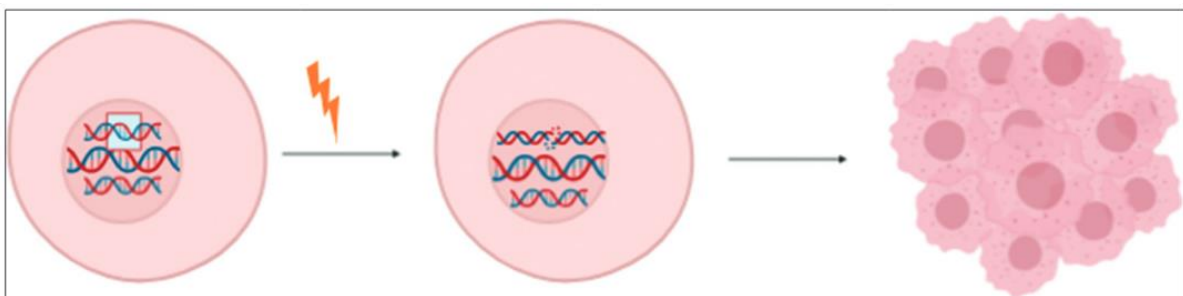


Figure 7. Schéma résumant l'action d'une altération moléculaire « driver ». L'altération moléculaire est suffisante pour induire la prolifération tumorale [selon Morjaria (29)]

Les altérations moléculaires « drivers » les plus notables des adénocarcinomes pulmonaires non-mucineux sont situées au niveau des gènes *EGFR* (prévalence de 10-20 %), *KRAS* (prévalence de 25%), *BRAF* (3-5%), *MET* (4% de mutation de l'exon 14), *ALK* (2-7%), *ROS1* (1-2%) et *NTRK* (2-3%). (30) Les autres anomalies moléculaires souvent identifiées ne sont pas actionnables (c'est-à-dire inaccessibles à une thérapie ciblée). Nous pouvons citer les mutations de *PIK3CA*, de *PTEN*, de *AKT* etc... (31)

La prévalence des évènements moléculaires « drivers » au niveau des adénocarcinomes pulmonaires non-mucineux est élevée. Encore récemment estimée à près de 50% (32), des

études plus récentes utilisant de larges panels de séquençage haut débit (NGS) montrent qu'ils seraient présents dans 86,9% des cas (31).

Les adénocarcinomes pulmonaires mucineux présentent quant à eux un profil moléculaire différent de celui des adénocarcinomes non-mucineux. La prévalence des mutations du gène *KRAS* est forte (près de 60%) dans ce sous-type tumoral. (33)

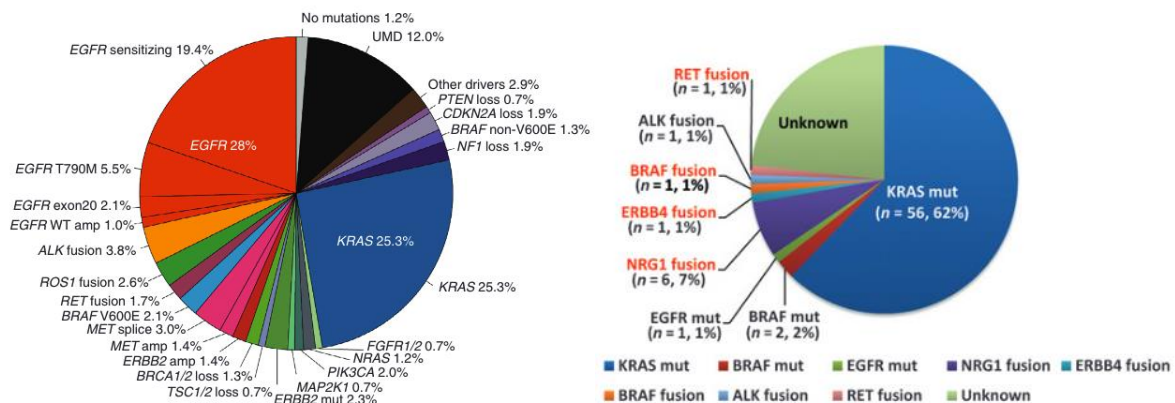


Figure 8 : Profil moléculaire des adénocarcinomes pulmonaires non-mucineux et mucineux (tiré de Jordan et al. et Nakaoku et al. (31,34))

Les carcinomes épidermoïdes pulmonaires se développent par une transformation dite « multi-étapes » (passage par une dysplasie de plus en plus sévère, puis d'un carcinome in situ pour aboutir au CE invasif), qui correspond à l'accumulation progressive d'aberrations génétiques et épigénétiques mais sans anomalie moléculaire « driver » qui serait actionnable. (35–37)

Ainsi la recherche d'altération génétique n'est pas recommandée dans le cas du CE pulmonaire, en dehors de cas particuliers (CE pulmonaire diagnostiqué chez un patient jeune et/ou non-fumeur). (38)

Principales altérations moléculaires actionnables

EGFR

Le gène *EGFR* (*Epidermal Growth Factor Receptor*) est un gène situé sur le bras court du chromosome 7 (7p11.2), codant un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase appartenant à la famille HER (ou *ERBB*, allant de HER1 à 4). Ce récepteur possède une structure semblable aux autres récepteurs de cette famille. Il comprend un domaine extracellulaire capable de fixer certains ligands, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire porteur d'une activité kinase.

En situation physiologique, la fixation d'un ligand sur le domaine extracellulaire entraîne l'homo- ou l'hétéro-dimérisation avec un autre récepteur à activité tyrosine kinase. Cette dimérisation entraîne une phosphorylation des résidus tyrosines permettant la transduction du signal aux voies de signalisation intracellulaires d'aval, dont les principales sont la voie PI3K-

AKT-mTOR (favorisant la survie cellulaire) et la voie des MAPkinases/ERK (favorisant plutôt la prolifération cellulaire) (Figure 10). (39)

Les mutations d'*EGFR* sont responsables d'une activation de la kinase d'*EGFR*, indépendante de la présence de ligand et entraînent l'activation incontrôlée des voies d'aval. Ces mutations surviennent uniquement au niveau du domaine tyrosine kinase de la protéine, codée par les exons 18 à 21 du gène (Figure 9), avec une forte prédominance de la mutation p.L858R et des délétions de l'exon 19, représentant à elles seules 85% des mutations d'*EGFR*. (40)

Dans les CBNPC de stade IV, la présence d'une mutation activatrice de *EGFR* permet une prise en charge en 1^{ère} ligne par ITK dirigé contre *EGFR*. Le choix de la molécule dépend de la nature de la mutation, qui ont des profils de sensibilité différents, et de la présence ou d'éventuelle mutation de résistance (13).

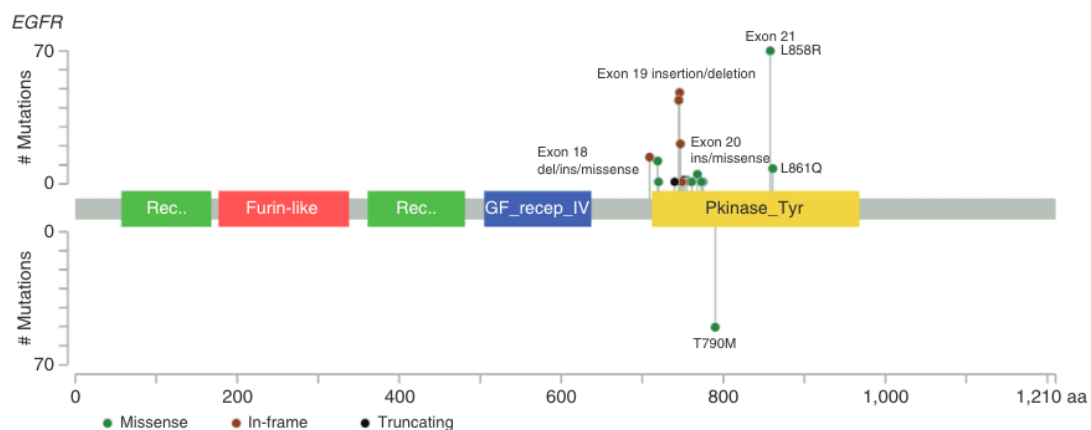


Figure 9. Répartition des mutations activatrices et de résistance connues de l'*EGFR* [tiré de Jordan et al. (31)]

Sur le plan épidémiologique, les mutations de *EGFR* surviennent plus fréquemment chez les femmes, les patients non-fumeurs et les patients asiatiques. (41)

KRAS

Le gène *KRAS* (Kirsten rat sarcoma virus), situé sur le chromosome 12, est un gène appartenant à la famille RAS. Ce gène code pour une GTPase dont le rôle est de relier l'activation des récepteurs à tyrosine kinase aux différentes voies moléculaires d'aval, dont les principales sont les voies des MAPkinases/ERK et de PI3K-AKT-mTOR (Figure 10).

Les mutations de *KRAS* entraînent une activation de ces voies. Elles ont comme particularité de survenir en grande majorité chez le patient fumeur, et se concentrent au sein du codon 12 du gène : les mutations p.G12C, p.G12V et p.G12D représentent plus de 80% des mutations (42).

Il est néanmoins difficile de cibler directement une mutation de *KRAS*. En effet, la petite taille de la protéine codée par le gène, ainsi que sa forme générale relativement lisse limitent les possibilités d'inhibition, faisant que de potentiels médicaments ciblant les mutations de *KRAS* peuvent affecter également les protéines *KRAS* non-mutées. (43)

Cela explique que seule la mutation de *KRAS* p.G12C, est actuellement accessible à une thérapie ciblée en 2^{ème} ligne de traitement dans les CBNPC de stade IV. Le SOTORASIB dispose ainsi de l'AMM avec autorisation d'accès précoce (AAP) en France depuis 2022. Sa place vis-à-vis des autres possibilités thérapeutiques de 2^{ème} ligne reste encore à définir (44). La 1^{ère} ligne de traitement est inchangée par rapport à un patient sans mutation de *KRAS* (13).

La présence d'une mutation de *KRAS* a un impact négatif sur la survie globale et à la survie sans progression (PFS) des patients atteints de CBNPC (45). Elle est par contre statistiquement associée à l'expression de PD-L1, à la présence de lymphocyte T infiltrant la tumeur (TIL) et d'une charge mutationnelle tumorale élevée, qui sont des facteurs de réponse à l'immunothérapie (46).

BRAF

Le gène *BRAF* (pour V-Raf Murine Sarcoma viral oncogene homolog B) est un gène situé sur le chromosome 7. Il code la protéine BRAF, une sérine-thréonine kinase appartenant à la famille des protéines RAF. Son rôle est la transduction du signal de prolifération cellulaire au sein de la voie des MAPkinases/ERK à partir de son activation par une protéine RAS (Figure 10).

Les mutations de *BRAF* entraînent une activation en aval de la voie de signalisation MAPK/ERK. Parmi ces mutations, la mutation *BRAF* p.V600E est la plus fréquente (plus de 50%) (47). Sur le plan pronostique, la présence d'une mutation de *BRAF* est décrite comme associée à une moindre efficacité de la chimiothérapie à base de platine comparée aux tumeurs sans mutation de *BRAF* (48).

La détection de la mutation *BRAF* V600E est une indication à l'association DABRAFENIB + TRAMETINIB (respectivement inhibiteurs de *BRAF* V600E et de *MEK*) en 2^{ème} ligne de traitement dans les CBNPC de stade IV. La 1^{ère} ligne de traitement est également identique à celle proposée chez un patient non muté (13).

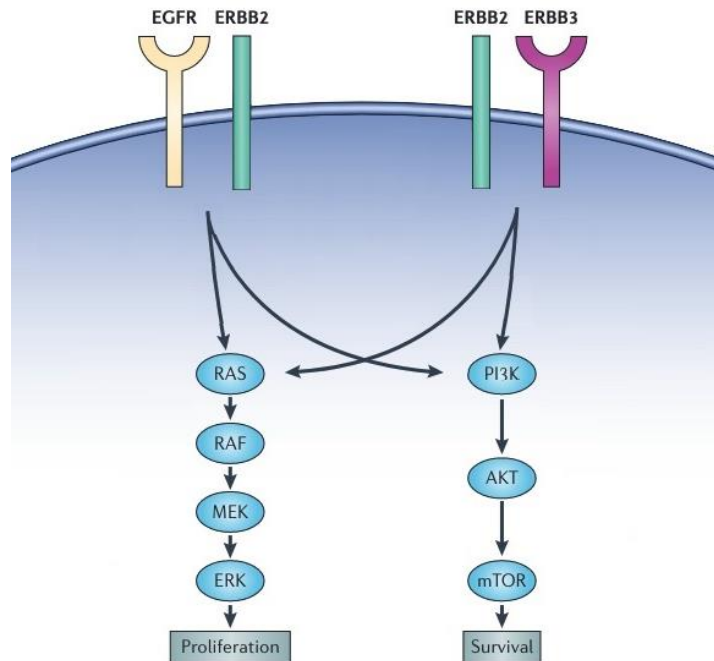


Figure 10. Activation des voies moléculaires en aval d'*EGFR* et autres récepteur ERBB [adapté selon Yarden et al. (39)]

ALK

ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) est un gène situé sur le bras court du chromosome 2 codant pour un récepteur à activité tyrosine kinase transmembranaire. En situation physiologique, c'est un gène exprimé au sein du système nerveux, des intestins et du tissu testiculaire durant l'embryogenèse (49).

Les altérations moléculaires impliquant *ALK* dans les CBNPC sont des inversions ou des translocations chromosomiques qui aboutissent à la fusion de régions variables d'un autre gène avec l'exon 20 du gène *ALK*, codant pour le domaine tyrosine kinase intra-cytoplasmique de la protéine.

Parmi ces réarrangements, la plus fréquente est de loin la fusion *ALK-EML4* (> 90% des cas), qui correspond à une inversion paracentrique du bras court du chromosome 2 (Figure 11). Cette inversion aboutit à la formation d'une protéine chimérique composée du domaine tyrosine kinase de *ALK* avec la portion N-terminale plus ou moins tronquée du gène *EML4* (en fonction des points de cassure). Cette protéine a la particularité d'avoir une activité tyrosine kinase permanente indépendante de la fixation d'un ligand, et transmet ainsi un signal incontrôlé de prolifération cellulaire.

Les autres partenaires impliqués dans la formation de protéine chimérique avec *ALK* (*TFG*, *KIF5B*, *KLC1*...) aboutissent à une activation de la kinase *ALK* similaire à celle issue de *EML4-ALK* (50).

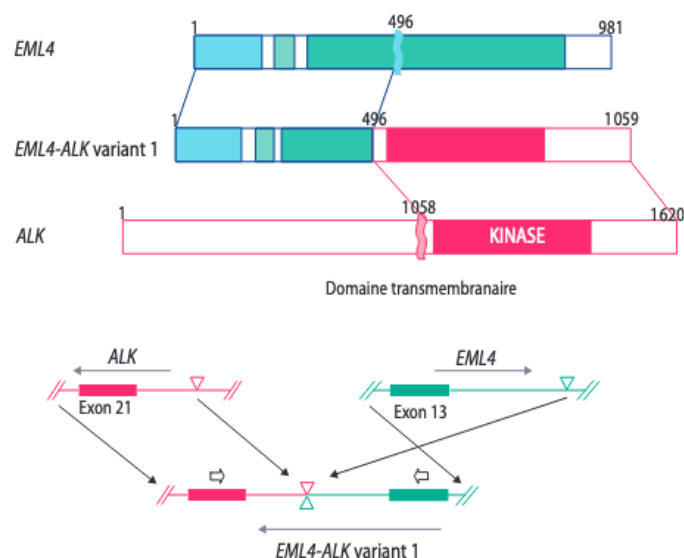


Figure 11 : Schéma de la translocation EML4-ALK, qui illustre l'inversion de la partie aminoterminal d'EML4 et sa fusion avec la partie du gène ALK codant pour le domaine tyrosine kinase [selon Lantuejoul et al. (50)]

Les CBNPC possédant ce réarrangement surviennent généralement chez des patients jeunes, non-fumeurs et à un stade plus avancé. Les carcinomes *ALK*-réarrangés présentent plus fréquemment une architecture solide et un aspect cytologique particulier dit « en bague à chaton ». (51)

La présence d'un réarrangement de *ALK* permet la prescription dès la 1^{ère} ligne de traitement d'un ITK de *ALK*. Parmi les molécules disponibles, le BRIGATINIB et l'ALECTINIB sont actuellement préférés. (13)

Les traitements des lignes suivantes reposent également sur la prescription d'un autre ITK de *ALK*, dont le choix peut être guidé par l'identification moléculaire du mécanisme de résistance. En effet, différentes mutations de résistance peuvent apparaître par pression de sélection et chacune possède un profil de sensibilité différent aux ITK de *ALK*. (13,28)

ROS1

Le gène *ROS1* (c-Ros Oncogene 1) est situé sur le bras long du chromosome 6. C'est un gène assez semblable à *ALK* : il code également un récepteur à activité tyrosine kinase transmembranaire de structure similaire. A l'heure actuelle, le rôle de ce gène est mal connu en dehors du contexte oncologique (52).

Comme pour *ALK*, les altérations moléculaires impliquant *ROS1* sont des réarrangements chromosomiques aboutissant à la formation d'une protéine chimérique avec activité tyrosine kinase indépendante de son ligand. Les partenaires de fusion de *ROS1* sont nombreux et comprennent entre autres les gènes *CD74* (38-54%), *EZR* (13-24%), *SDC4* (9-13%), *SLC34A2* (5-10%) et *TPM3* (3-15%) (53).

La présence d'un réarrangement de *ROS1* survient également à un stade avancé chez des patients jeunes et non-fumeurs. L'aspect cytologique « en bague à chaton » ainsi que l'architecture histologique solide sont également statistiquement associés à ce réarrangement (54).

Sur le plan thérapeutique, le CRIZOTINIB, un ITK de *ALK* qui dispose de l'AMM, est prescrit en 1^{ère} ligne pour le traitement des CBNPC stade IV présentant un réarrangement de *ROS1* (13,55). D'autres inhibiteurs de *ROS1* semblent également efficaces, mais ne disposent pas à ce jour de l'AMM en France (13).

MET

Le proto-oncogène *MET* (MET Proto-Oncogene, aussi appelé hepatocyte growth factor receptor) est situé sur le bras long du chromosome 7. Il code un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase dont le ligand activateur est le facteur de croissance des hépatocytes (HGF).

La liaison de ce ligand entraîne la dimérisation de *MET* et son autophosphorylation qui active son activité tyrosine kinase et permet l'activation des voies moléculaires d'aval, dont les principales sont également les voies des MAPkinase/ERK et PIK3CA/AKT (56).

A la différence des mutations d'*EGFR*, les mutations du gène *MET* dans les CBNPC ne sont pas situées au niveau du domaine tyrosine kinase de la protéine, mais au niveau du site d'épissage de l'exon 14 du gène, entraînant un saut de cet exon lors de la transcription qui aboutit à la perte du domaine juxta-membranaire de *MET*. Comme ce domaine est responsable en temps normal de la dégradation de la protéine et de la régulation de son activité, la mutation se traduit par une accumulation de la protéine et une augmentation de son activité (57).

Les mutations de *MET* sont fréquemment détectées dans les carcinomes sarcomatoïdes (58).

Les amplifications de *MET* sont également responsables d'une hyperactivation de la protéine. Cette amplification peut être présente « de novo » au niveau de la tumeur, ou peut survenir en réponse à la prise d'ITK d'*EGFR* et constitue ainsi un mécanisme de résistance acquise aux ITK (59).

Au niveau thérapeutique, le CRIZOTINIB dispose également d'une recommandation temporaire d'utilisation (RTU) dans un contexte de 2^{ème} ligne de traitement des CBNPC présentant une mutation de l'exon 14 de *MET* (60). Des inhibiteurs spécifiques de *MET*, dont le CAPMATINIB et le TEPOTINIB ont été développés. Leur place vis-à-vis des autres traitements est actuellement en cours d'évaluation (13).

Autres

D'autres altérations moléculaires « driver » plus rares sont identifiées dans les CBNPC. Certaines peuvent être éligibles à une thérapie ciblée en France : (13)

- Les réarrangements de *RET* (Rearranged during transfection) permettent la prescription en 2^{ème} ligne du PRALSETINIB ou du SELPERCATINIB, deux inhibiteurs spécifiques de *RET*.
- Les fusions de *NTRK* (Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase) sont sensibles aux inhibiteurs de TRK que sont le LAROTRECTINIB et L'ENTRECTINIB. A noter que seul ce premier dispose de l'AMM en France, mais n'est pas remboursé pour cette indication.

Enfin, certaines anomalies moléculaires connues sont actuellement en cours d'essais cliniques afin de déterminer leur actionnabilité dans les CBNPC, comme les mutations de l'exon 20 de *ERBB2*, les réarrangements de *NRG1* ou les altérations de *MET* autres que celles de l'exon 14 (13).

Immunité antitumorale

Néo-antigène tumoral

Les cancers sont des maladies génétiques. Les avantages sélectifs des cellules cancéreuses qui permettent leur survie et leur prolifération proviennent hors exceptions d'altérations génétiques. L'oncogenèse est ainsi marquée par une accumulation de ces mutations (61).

Ces altérations génétiques peuvent aboutir à des protéines anormales exprimées par la cellule tumorale. Ces protéines possèdent des néo-antigènes reconnus comme étrangers par le système immunitaire (62).

En situation physiologique, le système immunitaire reconnaît les antigènes exprimés par les cellules saines du soi et ne déclenche pas de réaction à leur égard. A l'inverse, un néo-antigène est reconnu comme étranger et déclenche une réponse immunitaire.

Néanmoins, tous les néo-antigènes ne sont pas reconnus de la même manière par le système immunitaire, et seulement certains d'entre eux induisent une réponse. En effet, un néo-antigène d'une structure proche d'un antigène du Soi peut être reconnu comme tel et ne pas induire de réponse immune. Les néo-antigènes qui induisent une réponse immune ont de grande divergence par rapport à la protéine d'origine (61,62).

Réponse immunitaire antitumorale

La réponse du système immunitaire est un phénomène complexe, faisant intervenir une série d'étapes, dont la finalité est la reconnaissance, puis la destruction des cellules tumorales (Figure 12).

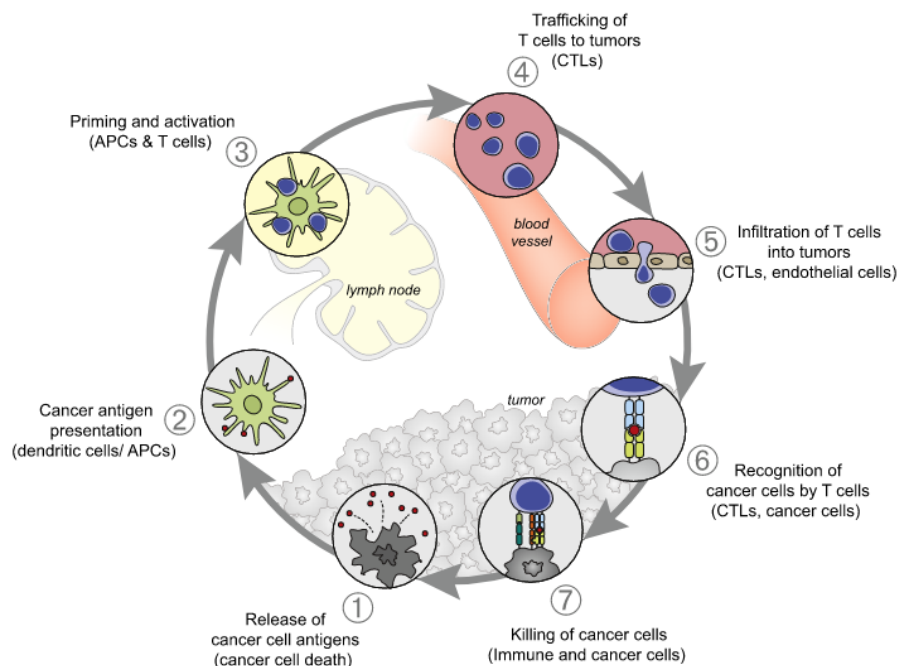


Figure 12. Le cycle « cancer-immunité » [selon Chen et al. (63)]. La première étape est la libération de néo-antigènes tumoraux lors de la mort d'une cellule tumorale. Ces néo-antigènes sont alors capturés et dégradés par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), qui migreront du lieu de mort cellulaire vers un ganglion lymphatique, où elles présenteront ces néo-antigènes à des lymphocytes T (LT) naïfs par l'intermédiaire du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), permettant l'activation de LT cytotoxiques CD8+. Par le biais de la circulation générale, les LT CD8+ rejoignent la tumeur où ils reconnaissent les néo-antigènes exprimés en association avec les molécules de classe I du CMH à la surface des cellules tumorales. Cette reconnaissance permet la lyse de la cellule tumorale, entraînant ainsi la libération d'autres néo-antigènes entretenant et amplifiant la réponse immunitaire.

Ces différentes étapes sont finement régulées par différents signaux activateurs ou inhibiteurs dont le but est le contrôle de la réponse immunitaire. Parmi ceux-ci, les « immune checkpoints » ou points de contrôle immunitaires (PCI) sont des molécules inhibitrices qui font partie des systèmes de régulation physiologique du système immunitaire. Leur rôle est de prévenir la survenue d'auto-immunité et de moduler la durée et l'amplitude des réponses immunitaires (64).

Points de contrôle immunitaires

Au sein d'un organe lymphoïde secondaire, la reconnaissance par le LT naïf du complexe CMH -néo-antigène présenté par la CPA [étape n°3 « priming » du cycle cancer-immunité (63)] est une condition nécessaire mais insuffisante pour l'activation du LT. Un signal de costimulation (2^{ème} signal) est requis. Il se fait par liaison entre le CD28 lymphocytaire avec la protéine B7 de la CPA (correspondant à CD80 ou CD86), et amplifiant fortement le signal primaire. Ce signal de costimulation peut être neutralisé par CTLA4, une protéine d'immunorégulation négative, ayant une plus forte affinité que CD28 pour les protéines B7, aboutissant à inhiber l'activation du LT naïf (Figure 13). Le troisième signal est donné par les nombreuses cytokines qui sont libérées.

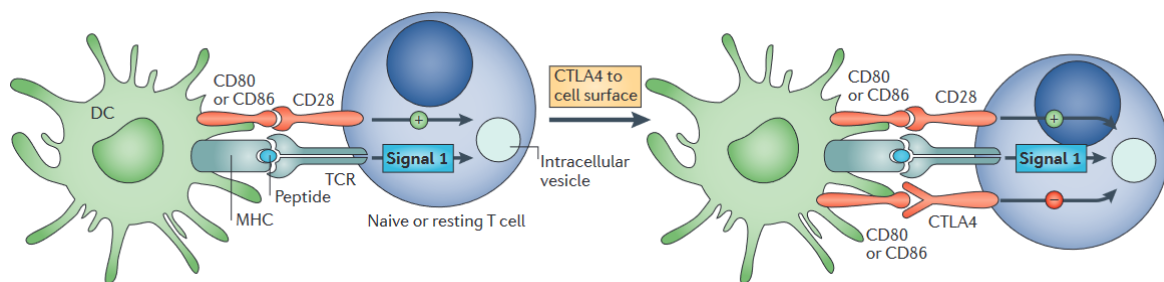


Figure 13. Schéma récapitulatif des différents mécanismes de régulation positive et négative de l'activation lymphocytaire [adapté de Pardoll et al. (64)]

PD-1 (CD279) est un récepteur transmembranaire exprimé à la surface de nombreuses cellules immunitaires, et en particulier des lymphocytes, qu'ils soient T CD4⁺ ou T CD8⁺, des lymphocytes NK, des lymphocytes B, des monocytes... L'expression de PD-1 est induite lors de l'engagement du TCR du LT. Il s'agit initialement d'un marqueur d'activation qui va ensuite interagir avec son ligand pour éviter une réaction immunitaire exagérée.

Le ligand principal de PD-1 est la protéine PD-L1 (Programmed death ligand 1, ou CD274), qui peut être exprimée au niveau des cellules des tissus périphériques. Après reconnaissance du complexe CMH-antigène par le TCR, la liaison PD-1/PD-L1 va engendrer un signal inhibant l'activation des kinases impliquées dans l'activation des lymphocytes T lors de la reconnaissance du complexe CMH-antigène par le TCR. Ce mécanisme d'immunotolérance est utilisé par les cellules tumorales (Figure 14) (65).

Une forte expression de PD-L1 par les cellules tumorales, qu'elle soit constitutive ou induite, est un facteur d'immunotolérance. L'expression induite de PD-L1 survient en réponse à un signal d'inflammation, en particulier via les interférons (dont l'interféron gamma). D'autres facteurs, comme l'hypoxie, peuvent également influencer son expression (66).

L'expression de PD-1 augmente lors d'une exposition chronique à un antigène (qu'il soit infectieux ou tumoral) causant l'épuisement des lymphocytes (exhaustion) (67).

A noter également l'existence d'un autre ligand de PD-1, Programmed Death Ligand 2 (PD-L2, ou CD273), dont l'expression est induite de manière préférentielle par l'interleukine 4 au niveau des cellules dendritiques et des macrophages (68). Son rôle précis dans la résistance immunitaire est moins connu (69).

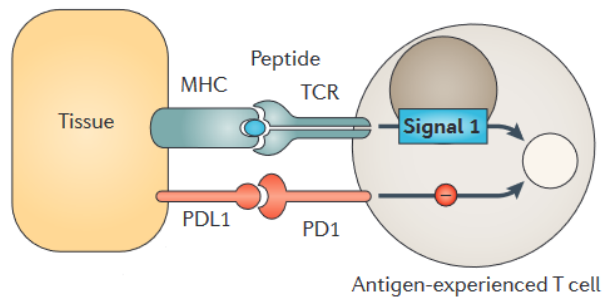


Figure 14. Schéma récapitulant l'inhibition de l'activation du LT CD8+ cytotoxique par PD-L1 exprimé par soit des cellules tumorales ou du microenvironnement [adapté de Pardoll et al. (64)]

CTLA4 régule l'activation du LT naïf au sein du ganglion lymphatique, tandis que la liaison PD1-PDL1 contrôle l'activité du LT au niveau des tissus périphériques. Ces 2 mécanismes sont importants pour éviter l'auto-immunité (64).

Ces deux PCI, particulièrement étudiés ces dernières années, font en effet partis des voies qui sont détournées par la tumeur afin d'échapper à l'immunosurveillance

Réponse tumorale au système immunitaire

Malgré la production de néo-antigènes tumoraux par les cellules tumorales, l'échappement au système immunitaire est un des mécanismes fondamentaux de la cancérogenèse. Plusieurs mécanismes, parfois associés, peuvent être mis en place par la tumeur pour échapper à la surveillance immunitaire (70).

L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales et/ou par leur micro-environnement permet à la tumeur d'échapper à l'action cytotoxique des LT CD8. Il existe deux profils d'expression de PD-L1 (Figure 15) :

- En cas de résistance immunitaire innée, l'expression de PD-L1 à la surface de la cellule tumorale est constitutive, indépendante de signaux inflammatoires. Cette expression est liée à des anomalies moléculaires ou à une activation de certaines voies de signalisation oncogéniques (71,72).
- En cas de résistance immunitaire adaptative, l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales et du micro-environnement survient en réponse aux signaux inflammatoires sécrétés (dont l'interféron gamma) qui induisent l'expression de PD-L1 (73).

Ces deux mécanismes ne sont pas mutuellement exclusifs. L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales et du microenvironnement peut être induite à la fois par des mécanismes oncogéniques et adaptatifs (69).

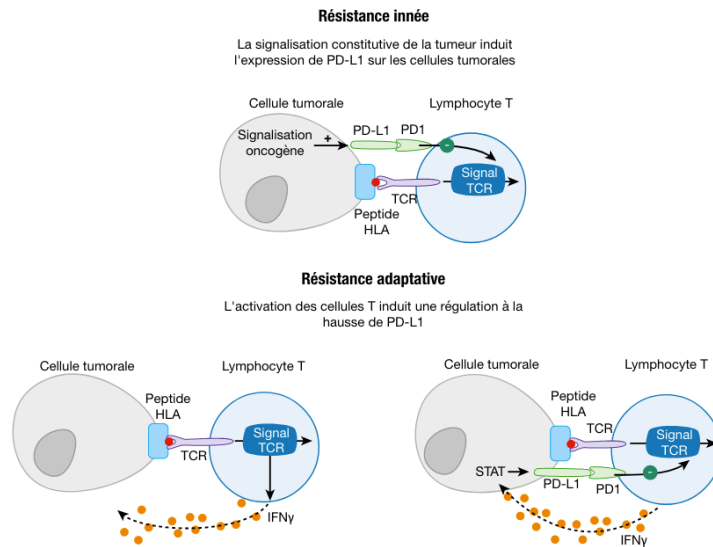


Figure 15. Schéma résumant les 2 principaux mécanismes d'expression de PD-L1 par les cellules tumorales [adapté de Vuagnat et al. (74)]

Il a ainsi été décrit 4 profils différents en fonction de l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales et du microenvironnement et de la présence de lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL) (Figure 16).

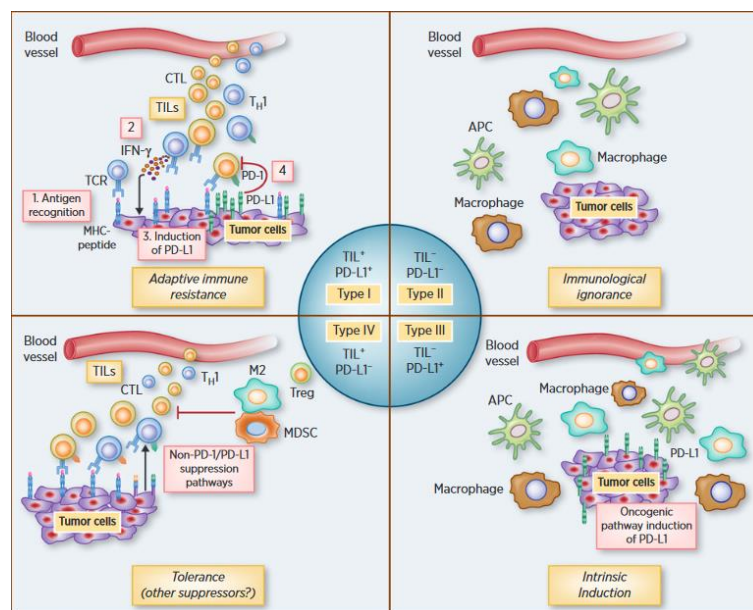


Figure 16. Profils de micro-environnements tumoraux selon Teng et al. (73,75) :

Type I (appelé résistance immunitaire adaptative) : les cellules tumorales et du microenvironnement expriment PD-L1, et la tumeur renferme des TIL (PD-L1 + / TIL +). L'expression de PD-L1 induite en réponse à l'inflammation « protège » les cellules tumorales.

Type II (« ignorance immunologique ») : tumeurs sans TIL, ni expression de PD-L1. La tumeur ne semble pas dans ce profil être reconnue comme du « non-soi » par le système immunitaire.

Type III (« induction intrinsèque ») : tumeurs dépourvues de TIL, mais exprimant PD-L1. L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales est constitutive grâce à l'activation de voies de signalisation oncogéniques.

Type IV (« tolérance ») : tumeur infiltrée par des TIL, sans expression de PD-L1 (PD-L1 - / TIL +). Cette situation peut s'expliquer par la présence au sein de l'infiltrat inflammatoire de cellules immunomodulatrices (LTreg, cellules myéloïdes immunosuppressives)

L'efficacité des thérapies inhibant les PCI sera différente en fonction du profil. En effet un patient dont la tumeur présente un microenvironnement de type I (résistance immune adaptative) bénéficie en théorie de plus de chances de répondre de manière favorable à une immunothérapie bloquant l'axe PD-1/PD-L1 par rapport à un type II (« ignorance immunologique ») ou un type IV (profil de « tolérance »).

Néanmoins, ces profils théoriques restent à nuancer. D'une part, l'expression de PD-L1 et les TIL ne sont pas des variables binaires, et il existe de nombreuses nuances au niveau de leur quantification. Des profils « intermédiaires » sont fréquemment rencontrés en pratique courante.

D'autre part, l'infiltration immunitaire tumorale à partir des néo-vaisseaux peut également être inhibée, voire bloquée par des mécanismes tumoraux, empêchant l'extravasation des leucocytes au sein de la tumeur. On peut citer comme exemple l'inhibition d'expression de protéines d'adhérence au niveau de l'endothélium comme le vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) et intracellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1), ou la sécrétion de Vascular Epithelial Growth Factor (VEGF) (76,77).

Immunothérapies dans les CBNPC

Historique

Les immunothérapies prescrites dans la prise en charge des CBNPC sont des anticorps monoclonaux bloquant l'axe PD-L1/PD-1, en ciblant PD-1 (PEMBROLIZUMAB ou NIVOLUMAB) ou PD-L1 (l'ATEZOLUMAB ou DURVALUMAB). Leur objectif est de rétablir l'immunité anti-tumorale en bloquant ce mécanisme d'immunotolérance (63).

Ces traitements ont largement fait la preuve de leur efficacité dans la prise en charge des CBNPC métastatiques ne présentant pas de mutation du gène *EGFR* ou de réarrangement de *ALK* ou de *ROS1* (23,78,79). Le PEMBROLIZUMAB en monothérapie fait désormais parti des options thérapeutiques de 1^{ère} ou de 2^{ème} ligne (12,13). L'association à ce traitement à un doublet de chimiothérapie a également montré sa supériorité vis-à-vis du doublet de chimiothérapie seul, quel que soit le statut de PD-L1 (20,21).

Une sélection des patients éligibles doit néanmoins être réalisée. En effet, les premiers essais cliniques sans sélection de patients par un biomarqueur (80), ont noté une prévalence élevée de tumeurs exprimant PD-L1 parmi les patients répondeurs (81,82).

Puis, la corrélation entre l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales et le taux de réponse à ces traitements a permis de définir un seuil pour la prescription du PEMBROLIZUMAB en 1^{ère} ligne de traitement (TPS $\geq$ 50%), puis de démontrer la supériorité de ce traitement seulement dans cette population (23,83,84). En effet, l'analyse des sous-groupes de patients dont la tumeur n'exprime pas ou faiblement PD-L1 (TPS < 50%) n'a pas mis en évidence de meilleure

réponse de ces immunothérapies en monothérapie par rapport au traitement de référence. (84)

En 2^{ème} ligne de traitement, l'efficacité des immunothérapies en terme de survie globale (OS) est supérieure à celle de la chimiothérapie, même lorsque l'expression de PD-L1 est faible pour le PEMBROLIZUMAB (TPS compris entre 1 et 49%), ou pour l'ATEZOLUMAB et le NIVOLUMAB (TPS < 1%) (78,79).

Ces immunothérapies ont également l'avantage d'être mieux tolérées sur le plan clinique, avec des effets secondaires moins sévères que ceux des chimiothérapies (23,78,79).

Actuellement, les indications des immunothérapies en France pour les CBNPC métastatiques sont :

- En 1^{ère} ligne : le PEMBROLIZUMAB en monothérapie (ou en association avec un doublet de chimiothérapie) si TPS $\geq$ 50 % (22), en association si le TPS < 50%. (18,19)
- En 2^{ème} ligne de traitement : en absence d'immunothérapie en 1^{ère} ligne, le PEMBROLIZUMAB peut être prescrit en monothérapie si le TPS > 1%, l'ATEZOLUMAB ou le NIVOLUMAB sont utilisables quel que soit le score TPS (85).

Depuis peu, Le CEMIPIMAB (un anticorps anti PD-1) et l'ATEZOLUMAB peuvent désormais être prescrit en première intention en France si le TPS $\geq$ 50 %.

Concernant les carcinomes à petites cellules, ceux-ci bénéficient également de l'immunothérapie en première ligne, avec une prise en charge de 1^{ère} ligne associant une chimiothérapie par CARBOPLATINE et ETOPOSIDE associé à l'ATEZOLUMAB, suivi d'un traitement d'entretien par ATEZOLUMAB. Cette thérapie ne nécessite pas de biomarqueur pour sa prescription.

Détermination du statut PD-L1

À l'heure actuelle, l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales (ou TPS pour Tumor Proportion Score) est le seul biomarqueur prédictif approuvé en France pour la prescription d'immunothérapie pour les CBNPC.

Le TPS est déterminé par immunohistochimie réalisée sur une coupe de tissu tumoral fixé dans le formol et inclus en paraffine (FFPE). Il correspond au pourcentage de cellules tumorales exprimant PD-L1 au niveau membranaire rapporté au nombre total de cellules tumorales (Figure 17) (86,87).

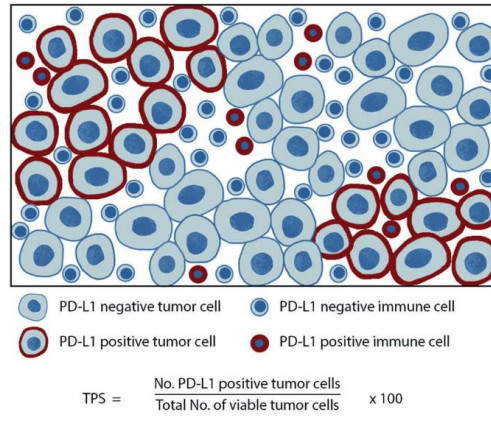


Figure 17 : Schéma récapitulatif du calcul du score TPS [selon de Ruiter et al. (87)]. Seules les cellules tumorales sont prises en compte pour le calcul du TPS. Les cellules immunitaires exprimant PD-L1 ne doivent pas être comptabilisées.

L'immunomarquage PD-L1 n'est pas un biomarqueur parfait. En effet, bien qu'il ait prouvé son efficacité en tant que test compagnon pour la prescription d'immunothérapie dans les CBNPC, une proportion non négligeable de patients PD-L1 $\geq 50\%$ ne répond pas au traitement, alors que certains exprimant faiblement PD-L1 peuvent présenter une réponse (84). Cette diversité de réponse est problématique : en 1^{ère} ligne, on ne sait pas quel patient avec un TPS $\geq 50\%$ sera susceptible de bénéficier d'une immunothérapie seule (24).

L'expression dynamique et hétérogène de PD-L1 par les cellules tumorales explique en partie cette variabilité de réponse (88). Ce point est particulièrement important lorsque l'évaluation du TPS se fait sur une biopsie de petite taille qui ne reflète qu'une infime partie de la tumeur. La sur- ou sous-évaluation de l'expression globale est possible (89).

Cette variabilité d'expression n'est toutefois pas suffisante à elle-seule pour expliquer cette hétérogénéité des réponses thérapeutiques. Il est probable que l'expression seule de PD-L1 ne permette pas d'évaluer précisément le processus immunitaire dans sa globalité.

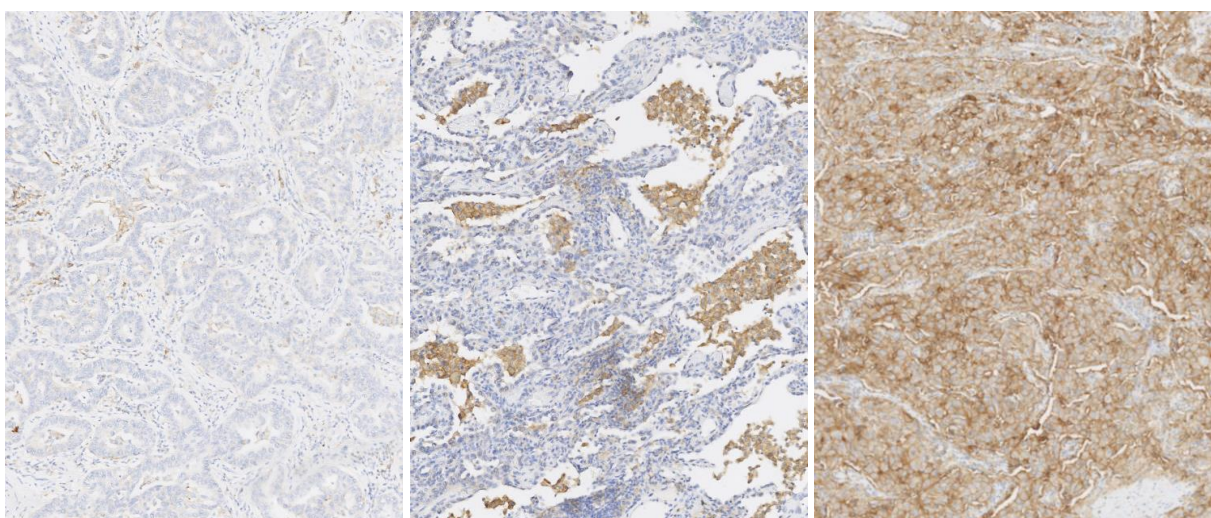


Figure 18 : Exemple de marquage PD-L1. TPS=0% (gauche) Marquage de cellules immunitaires (milieu) et TPS=100% (droite)

Il a ainsi été proposé pour affiner le rôle prédictif de PD-L1 à la réponse de l'immunothérapie d'évaluer de manière concomitante l'infiltration de la tumeur par les lymphocytes T CD8+. Cet infiltrat inflammatoire a en effet été reporté comme un facteur pronostic dans différents cancers, (mélanomes, adénocarcinomes mammaires...). Il pourrait être un marqueur prédictif de réponse aux inhibiteurs des PCI (90).

Dans les CBPNC des études ont également pu mettre en évidence une association entre TIL et la réponse à l'immunothérapie (91,92). La quantification des TIL CD8+ est facilement réalisable par immunohistochimie sur le même prélèvement que celui utilisé pour le diagnostic histologique.

Cet immunomarquage complémentaire est utile, mais insuffisant pour sélectionner au mieux les patients éligibles à l'immunothérapie dans le CBNPC. De nombreux travaux sont en cours pour identifier des biomarqueurs complémentaires ou alternatifs, afin d'affiner la prédiction de la réponse à l'immunothérapie. Parmi ceux-ci, la charge mutationnelle tumorale (TMB) pourrait être un facteur prédictif d'efficacité de l'immunothérapie, indépendamment du niveau d'expression de PD-L1 et des TIL.

Charge mutationnelle tumorale

Présentation

Le concept de TMB a été introduit pour la première fois par l'article d'Alexandrov et al en 2013 (93). Elle correspond au nombre de mutation somatique par mégabase (Mb) d'ADN tumoral.

Cette TMB a rapidement été considérée comme un biomarqueur potentiel de réponse aux inhibiteurs des PCI. On sait que chaque mutation prise individuellement ne génère pas forcément un néo-antigène. Mais la somme des mutations prises dans leur ensemble, génère probablement de nombreux néo-antigènes dont certains sont immunogènes et contribuent à l'immunogénicité de la tumeur. On ne sait cependant pas lesquelles sont immunogènes.

Décrire l'immunogénicité d'une mutation dépend de nombreux critères, qui comprennent le gène muté ou le type de mutation. Les variants avec insertion ou délétion entraînant un décalage du cadre de lecture sont plus à même d'être immunogènes que ceux avec variation d'un seul nucléotide. (94,95)

La TMB est donc une mesure uniquement quantitative des mutations tumorales, reflétant de manière indirecte son état d'immunogénicité global, et non une mesure qualitative de l'immunogénicité des mutations présentées par le cancer.

Certains auteurs considèrent uniquement les mutations non-synonymes dans cette définition, tandis que d'autres incluent les mutations synonymes et non-synonymes (95). En effet, bien que les mutations synonymes ne soient pas susceptibles d'être directement impliquées dans la création de l'immunogénicité, leur présence traduit un signal mutationnel susceptible

Pour les CBNPC, la variabilité de la TMB est particulièrement importante en fonction du tabagisme. Les patients non-fumeurs ont peu de mutations par rapport aux tumeurs des patients fumeurs (99).

Intérêt de la TMB en tant que biomarqueur

Depuis sa description initiale, de nombreuses études ont montré une relation entre la TMB et la réponse à l'immunothérapie. Ces résultats suggèrent que la TMB pourrait être un biomarqueur prédictif de l'efficacité de ces traitements.

L'étude KEYNOTE 158, a démontré au sein d'une importante cohorte de plusieurs types de cancers, qu'une TMB élevée, définie par ≥ 10 mut/Mb était associée à une proportion plus élevée de patients répondeurs au PEMBROLIZUMAB. Cette étude n'incluait toutefois pas les CBNPC (104).

Cette étude a permis à l'agence fédérale du médicament américaine (FDA) d'approuver en 2020 la TMB ≥ 10 mut/Mb comme biomarqueur pour la prescription de PEMBROLIZUMAB à partir de la 2^{ème} ligne des cancers solides sans autres alternatives thérapeutiques (105).

Dans les CBNPC, cette association entre la TMB et la réponse au PEMBROLIZUMAB a été pour la 1^{ère} fois mise en évidence par Rizvi et al. en 2015 (106). Cette étude a démontré que la TMB moyenne, déterminée a posteriori chez des patients déjà traités, était supérieure chez les répondeurs de manière durable (durable clinical benefit) au PEMBROLIZUMAB, par rapport aux non-répondeurs ou répondeurs transitoires (no durable benefit).

L'étude CheckMate 026 a décrit en 2017 une association similaire entre la TMB et la réponse (en terme de survie sans progression) au NIVOLUMAB (107).

Par la suite, l'étude CheckMate 227 a comparé l'association du NIVOLUMAB + IPILIMUMAB à la chimiothérapie dans la prise en charge en 1^{ère} ligne de patient présentant un CBNPC stade IV. Cette étude a mis en évidence que l'association d'immunothérapies donnait de meilleurs résultats concernant la réponse au traitement et la survie sans progression, mais pas pour une la survie globale (OS) (108).

Seules des méta-analyses employant de très larges effectifs ont mis en évidence un bénéfice des immunothérapies en terme de survie globale vis-à-vis du traitement standard par chimiothérapie pour les CBNPC avec TMB élevée. Les différentes études analysées n'avaient toutefois pas toutes les mêmes méthodes de calculs, ni les mêmes seuils de définition d'une TMB élevée (109,110).

En revanche, l'analyse rétrospective incluant les séries Keynote 010 (78) et 042 (111), a mis en évidence qu'une TMB élevée dans le groupe TPS $\geq 1\%$ était associée à une meilleure OS (112).

Ce résultat est particulièrement intéressant, car il n'existe pas d'association significative entre l'expression de PD-L1 et la TMB, suggérant que la TMB serait un facteur prédictif indépendant d'efficacité de l'immunothérapie (113,114).

Ainsi, l'ensemble de ces données suggère que la TMB pourrait être un biomarqueur complémentaire de l'expression de PD-L1 permettant de mieux sélectionner les patients susceptibles de répondre à l'immunothérapie seule en 1^{ère} ligne.

Mesure de la TMB

Par définition, la mesure de la TMB provient de l'analyse de l'exome entier (WES), qui se fait par séquençage haut débit (NGS), en ciblant la partie codante du génome (1% du génome, soit environ 30 Mb). Cette méthode est encore considérée comme le gold standard (115). Néanmoins, ses nombreuses contraintes, dont son coût, limitent son usage en routine.

Des panels de plus petite taille dits « CGP » (comprehensive genomic profiling), séquençant environ 1 Mb (entre 300 à 600 gènes), permettent de mesurer la TMB. Cependant, comme ils ciblent moins de gènes, la question de leur fiabilité pour la mesure de la TMB a été évoquée. Des études ont prouvé la non-infériorité ainsi que la reproductibilité de ces panels vis-à-vis du WES. (96,97)

Il existe actuellement plus de 10 panels disponibles pour déterminer la TMB, dont MSK-IMPACT (1,14 Mb, 468 gènes) et Foundation One CDx (0,8 Mb, 324 gènes). Ces deux tests sont autorisés par la FDA pour la mesure de la TMB, mais seul ce dernier a été approuvé par comme test compagnon pour la prescription du PEMBROLIZUMAB aux Etats-Unis (105).

Ces panels couvrent un grand nombre de gènes associés aux cancers solides, dont les proto-oncogènes et les gènes prédictifs de l'efficacité et/ou de la résistance à certaines thérapies.

En l'absence de tissu tumoral, des tests mesurant la TMB grâce à l'ADN tumoral circulant (ADNc) sont disponibles (116)

Examens moléculaires dans les CBNPC non-épidermoïdes métastatiques

Enjeux actuels de la recherche d'altérations moléculaires

La prise en charge des CBNPC nécessite de définir au diagnostic le type histologique et le profil moléculaire de la tumeur pour définir la stratégie thérapeutique optimale. Elle permet ainsi de restreindre le choix des traitements pertinents aux seuls patients susceptibles d'en bénéficier, et donc de diminuer les traitements inutiles et/ou toxiques.

L'institut National du Cancer (INCA) a publié début 2023 des recommandations concernant les tests moléculaires à réaliser pour tout CBNPC (hors carcinome épidermoïde du patient fumeur) (117).

La stratégie à mettre en place vis-à-vis des tests moléculaires est complexe. Elle nécessite :

- De réaliser un diagnostic histologique tout en respectant au maximum le matériel tumoral mis à disposition et d'éviter son épuisement.
- De rechercher des biomarqueurs de nature différente en réalisant parfois plusieurs techniques une fois le diagnostic posé
- De réaliser des techniques multiplexées permettant de minimiser le nombre de test à effectuer et d'obtenir des informations concernant l'ensemble des biomarqueurs nécessaires.
- D'utiliser des tests qui permettent d'obtenir des réponses dans un délai le plus court possible, compatible avec l'initiation rapide des traitements de 1^{ère} ligne.

Altérations à rechercher au diagnostic

Les biomarqueurs à rechercher au diagnostic peuvent se séparer sur le plan pratique en deux catégories. Les techniques morphologiques, comme l'immunohistochimie et la FISH, qui sont réalisées sur des coupes de tissu « FFPE » et les techniques de biologie moléculaire nécessitant l'extraction de l'ADN ou de l'ARN tumoral à partir du bloc FFPE.

Les analyses immunohistochimiques recommandées pour les CBNPC non-épidermoïdes sont :

- La détermination du statut PD-L1, qui doit être réalisée pour tous les types histologiques (comprenant les CBPPC et les CE pulmonaires)
- La recherche de protéines de fusion de *ALK* et *ROS1*. Ces résultats, en cas de positivité, devront être confirmés par une seconde technique moléculaire [FISH, RT-PCR ou NGS (50)] quel que soit l'intensité du marquage pour *ROS1* (118), et seulement pour les marquages faible ou modéré (dit 1+ ou 2+) de *ALK*. Les marquages de forte intensité (3+) ne nécessitent pas de confirmation par une seconde technique (119).
- Enfin, même si cette recherche n'est pas indiquée dans les recommandations, l'évaluation semi-quantitative du TIL (IHC CD8) est réalisée à la demande du clinicien.

Sur le plan moléculaire, la recherche de mutation actionnable d'*EGFR* est à réaliser avec une technique « rapide » qui permet d'obtenir des résultats en moins de 7 jours.

Les autres altérations moléculaires (mutations de *KRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, de *MET* (induisant un saut d'exon 14) et fusions de *ALK*, *ROS1*, *RET* et *NTRK*) doivent être rendues en moins de 21 jours (Figure 20) (12,13,117). D'autres altérations décrites comme « émergentes » peuvent aussi être recherchées. Il s'agit des mutations de *TP53*, *STK11* et *KEAP1*, des amplifications de *MET* et de *ERBB2* ou encore des fusions de *NRG1* (Tableau 2).

	ANOMALIES RECHERCHÉES	TECHNIQUE
Altérations à rechercher	Mutations d' <i>EGFR</i> (exons 18 à 21)	NGS ADN
	Mutations de <i>BRAF</i>	
	Mutations de <i>KRAS</i>	
	Mutations d' <i>HER2/ERBB2</i>	
	Saut de l'exon 14 de <i>MET</i>	
	Fusions impliquant <i>ALK</i>	NGS ARN
	Fusions impliquant <i>ROS1</i>	
	Fusions impliquant <i>RET</i>	
	Fusions impliquant <i>NTRK</i>	
Altérations émergentes à discuter	Amplifications de <i>MET</i> ou <i>HER2/ERBB2</i>	NGS ADN
	Mutations de <i>TP53</i> , <i>STK11</i> et <i>KEAP1</i>	NGS ARN
	Fusions de <i>NRG1</i>	

Tableau 2. Résumé des anomalies moléculaires à rechercher au stade métastatique des CBNPC non épidermoïdes du patient fumeur [selon l'INCA (117)]

Actuellement, les tests moléculaires sont réalisés sur les blocs FFPE. La fixation immédiate des biopsies dès leur réalisation et la faible quantité de tissu souvent disponible sont les principaux éléments qui ont guidé ce choix (120). Le recours à des tissus congelés est maintenant exceptionnel.

Organisation des pratiques

Une fois le diagnostic histologique posé, l'organisation de la réalisation des différentes techniques complémentaires doit ainsi s'adapter aux délais de réponse attendus pour la prescription des traitements de 1^{ère} ligne. Cette organisation peut se décrire sur un mode séquentiel :

1. La détermination du statut PD-L1, *ALK* et *ROS1*, et la quantification des TIL CD8+ est faite en même temps que le diagnostic histologique.
2. L'extraction des acides nucléiques à partir du matériel tumoral restant au sein du bloc FFPE. Cette étape est un prérequis indispensable à la réalisation des examens suivants
3. La réalisation d'une technique rapide [PCR-digitale (121), ou système Idylla Biocartis (122)] pour recherche des mutations du gène *EGFR*.
4. La recherche des autres altérations moléculaires se fait désormais par NGS ADN (DNAseq) et ARN (RNAseq), en utilisant des panels comprenant au minimum les gènes cités plus haut. Ces techniques de NGS sont débutées en même temps que la technique rapide, sans attendre son résultat.

Le panel NGS ADN ciblés qui comprennent quelques dizaines de gènes ne permettent de ne détecter que les mutations et les amplifications et/ou délétions géniques, mais pas les fusions et autres réarrangements génétiques qui nécessitent d'utiliser une technique RNAseq ciblée.

Actuellement l'utilisation de la FISH est limitée par l'augmentation du nombre de cibles à tester et la nécessité de connaître le partenaire de fusion. Elle peut être remplacée par une technique de RNAseq ciblée.

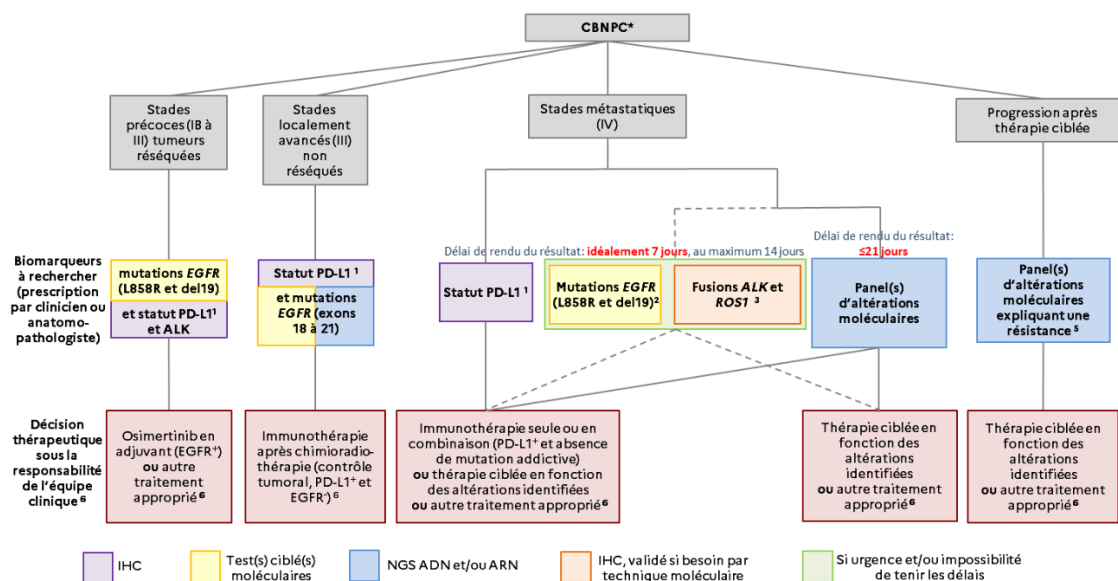


Figure 20. Arbre décisionnel des biomarqueurs nécessaires au traitement des patients atteints de CBNPC [selon l'INCA (117)]

Le panel NGS ADN ne permet pas la mesure de la TMB. Un panel plus large est nécessaire pour l'obtention de ce biomarqueur.

Profilage génomique extensif

Introduction

Un test de profilage génomique extensif (ou “comprehensive genomic profiling”, CGP) permet la détection simultanée de l'ensemble des altérations moléculaires présentées par une tumeur. Il ne s'agit pas d'une définition précise, mais plus d'une appellation s'étant imposée pour différencier ces tests des panels NGS ciblés de plus petites tailles ne permettant pas d'obtenir l'ensemble de ces altérations moléculaires.

Ces tests CGP utilisent des panels NGS de taille conséquente, comprenant entre 300 et 600 gènes, associés à une analyse bio-informatique adaptée. En plus des informations apportées par un panel NGS ADN de taille plus restreinte (mutation, d'amplification et/ou de délétion au niveau des zones couvertes) les panels CGP peuvent déterminer :

- La TMB
- La présence de réarrangement chromosomique
- L'instabilité microsatellitaire tumorale
- La perte d'hétérozygotie tumorale

AVENIO Tumor Tissue CGP Kit

Le test AVENIO Tumor Tissue CGP kit est une solution commerciale de la société Foundation Medicine, appartenant au groupe pharmaceutique Roche. Ce kit permet d'obtenir les mêmes résultats que le test Foundation One Cdx, c'est-à-dire l'ensemble des altérations moléculaires citées dans le paragraphe précédent. La principale différence de ce kit est :

- De fournir l'ensemble des réactifs nécessaires à la partie « wet lab ». C'est-à-dire : l'extraction de l'ADN, la constitution de la librairie et d'enrichissement du matériel.
- De réaliser en externe, une fois le séquençage réalisé, à partir des fichiers FASTQ obtenus, les analyses bio-informatiques secondaires et tertiaires.

L'avantage d'utiliser ce test est de bénéficier de l'expertise de ROCHE acquise grâce au test Foundation One Medecine et de la base de patients qui inclut plus de 500 000 cancers, tout en conservant les compétences et les savoir-faire acquis par l'équipe technique.

Contexte actuel et objectif de l'étude

Les tests CGP pourraient présenter un intérêt dans la prise en charge des CBNPC. En effet, ces cancers présentent de nombreuses altérations génétiques actionnables et une TMB élevée.

En dehors du test *EGFR* rapide, l'ensemble de ces analyses moléculaires (NGS ADN et ARN) pourraient en théorie être remplacé par un examen CGP. Ce test permettrait, dans le contexte actuel de développement de la médecine personnalisée, de disposer de l'ensemble des informations nécessaire au choix thérapeutique.

Actuellement, il n'existe pas de biomarqueur qui permette de choisir entre l'immunothérapie seule et l'immuno-chimiothérapie en 1^{ère} ligne de traitement des CBNPC TPS $\geq$ 50%. La TMB pourrait être une aide à ce choix.

L'objectif de ce travail préliminaire est d'évaluer, dans une série rétrospective de CBNPC PD-L1 $\geq$ 50% et traités par immunothérapie $\pm$ chimiothérapie, les informations moléculaires supplémentaires apportées par le CGP Avenio par rapport à la stratégie actuelle (NGS ADN + NGS ARN), et d'évaluer si la TMB élevée ($\geq$ 10 mut/Mb) est capable de prédire la réponse à l'immunothérapie.

Références de l'introduction générale

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA A Cancer J Clin.* mai 2021;71(3):209-49.
2. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 1 – Tumeurs solides. :372.
3. Tabac et effets sur la santé • Cancer Environnement [Internet]. Cancer Environnement. [cité 18 déc 2022]. Disponible sur: <https://www.cancer-environnement.fr/fiches/expositions-environnementales/tabac/>
4. Tredaniel J, Boffetta P, Saracci R, Hirsch A. Exposure to environmental tobacco smoke and risk of lung cancer: the epidemiological evidence. *Eur Respir J.* 1 oct 1994;7(10):1877-88.
5. Klebe S, Leigh J, Henderson DW, Nurminen M. Asbestos, Smoking and Lung Cancer: An Update. *IJERPH.* 30 déc 2019;17(1):258.
6. Cancer du poumon et exposition professionnelle aux métaux : une revue des études épidémiologiques - Article de revue - INRS [Internet]. [cité 1 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.inrs.fr/media.html?refINRS=TC%20120>
7. Baysson H, Tirmarche M, Tymen G, Gouva S, Caillaud D, Artus JC, et al. [Indoor radon exposure and lung cancer risk. Results of an epidemiological study carried out in France]. *Rev Mal Respir.* sept 2005;22(4):587-94.
8. Turner MC, Andersen ZJ, Baccarelli A, Diver WR, Gapstur SM, Pope CA, et al. Outdoor air pollution and cancer: An overview of the current evidence and public health recommendations. *CA A Cancer J Clin.* nov 2020;70(6):460-79.
9. Board WC of TE. Thoracic Tumours, WHO Classification of Tumours, 5th Edition [Internet]. [cité 26 févr 2023]. Disponible sur: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Thoracic-Tumours-2021>
10. Varghese AM, Zakowski MF, Yu HA, Won HH, Riely GJ, Krug LM, et al. Small-Cell Lung Cancers in Patients Who Never Smoked Cigarettes. *Journal of Thoracic Oncology.* juin 2014;9(6):892-6.
11. Wakelee HA, Chang ET, Gomez SL, Keegan TH, Feskanich D, Clarke CA, et al. Lung Cancer Incidence in Never Smokers. *JCO.* 10 févr 2007;25(5):472-8.
12. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* oct 2018;29:iv192-237.
13. Couraud PS. Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique. 2022;
14. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* juill 2017;28:iv1-21.
15. Cortés ÁA, Urquizu LC, Cubero JH. Adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: state-of- the-art. *Translational lung cancer research.* 2015;4(2).
16. TAGRISSO SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : Avis favorable au remboursement dans le traitement adjuvant des CBNPC de stade IB IIIA avec mutations activatrices de EGFR.

17. Felip E, Altorki N, Zhou C, Csősz T, Vynnychenko I, Goloborodko O, et al. Adjuvant atezolizumab after adjuvant chemotherapy in resected stage IB–IIIA non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *The Lancet*. oct 2021;398(10308):1344-57.
18. KEYTRUDA SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : AMM en association à une chimiothérapie dans le traitement de 1ère ligne des CBNPC métastatique non-épidermoïde sans mutations d'EGFR ou d'ALK [Internet]. [cité 8 janv 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-03/keytruda_synthese_ct17280.pdf
19. KEYTRUDA SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : Intérêt clinique important en association à une chimiothérapie en 1ère ligne de traitement des patients CBNPC métastatique épidermoïde [Internet]. [cité 8 janv 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-01/keytruda_synthese_ct17673.pdf
20. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 31 mai 2018;378(22):2078-92.
21. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gümüş M, Mazières J, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 nov 2018;379(21):2040-51.
22. KEYTRUDA SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : AMM en monothérapie dans le traitement de 1ère ligne des CBNPC métastatique exprimant PDL1, sans mutation tumorale d'EGFR ou d'ALK. [Internet]. [cité 8 janv 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-07/keytruda_cbnpc_1ligne_synthese_ct15941.pdf
23. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csősz T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 10 nov 2016;375(19):1823-33.
24. Descourt R, Chouaid C, Pérol M, Besse B, Greillier L, Bylicki O, et al. First-line pembrolizumab with or without platinum doublet chemotherapy in non-small-cell lung cancer patients with PD-L1 expression ≥ 50 . *Future Oncol*. août 2021;17(23):3007-16.
25. Torry DS, Cooper GM. Proto-Oncogenes in Development and Cancer. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1991;25(3):129-32.
26. Cisowski J, Bergo MO. What makes oncogenes mutually exclusive? Small GTPases. 3 juill 2017;8(3):187-92.
27. Zhao Y, Wang S, Yang Z, Dong Y, Wang Y, Zhang L, et al. Co-Occurring Potentially Actionable Oncogenic Drivers in Non-Small Cell Lung Cancer. *Front Oncol*. 16 juin 2021;11:665484.
28. Baldacci S, Mascaux C, Cortot A. Oncogénèse pulmonaire: comprendre les addictions oncogéniques et les résistances. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. oct 2019;11(3):184-92.
29. Morjaria S. Driver mutations in oncogenesis. *IJMIO*. 29 mai 2021;6:100-2.
30. Hirsch FR, Scagliotti GV, Mulshine JL, Kwon R, Curran WJ, Wu YL, et al. Lung cancer:

- current therapies and new targeted treatments. The Lancet. janv 2017;389(10066):299-311.
31. Jordan EJ, Kim HR, Arcila ME, Barron D, Chakravarty D, Gao J, et al. Prospective Comprehensive Molecular Characterization of Lung Adenocarcinomas for Efficient Patient Matching to Approved and Emerging Therapies. Cancer Discovery. 1 juin 2017;7(6):596-609.
 32. Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). The Lancet. avr 2016;387(10026):1415-26.
 33. Shim HS, Kenudson M, Zheng Z, Liebers M, Cha YJ, Hoang Ho Q, et al. Unique Genetic and Survival Characteristics of Invasive Mucinous Adenocarcinoma of the Lung. Journal of Thoracic Oncology. août 2015;10(8):1156-62.
 34. Nakaoku T, Tsuta K, Ichikawa H, Shiraishi K, Sakamoto H, Enari M, et al. Druggable Oncogene Fusions in Invasive Mucinous Lung Adenocarcinoma. Clinical Cancer Research. 15 juin 2014;20(12):3087-93.
 35. Teixeira VH, Pipinikas CP, Pennycuik A, Lee-Six H, Chandrasekharan D, Beane J, et al. Deciphering the genomic, epigenomic, and transcriptomic landscapes of pre-invasive lung cancer lesions. Nat Med. mars 2019;25(3):517-25.
 36. Rekhtman N, Paik PK, Arcila ME, Tafe LJ, Oxnard GR, Moreira AL, et al. Clarifying the Spectrum of Driver Oncogene Mutations in Biomarker-Verified Squamous Carcinoma of Lung: Lack of *EGFR* / *KRAS* and Presence of *PIK3CA* / *AKT1* Mutations. Clinical Cancer Research. 15 févr 2012;18(4):1167-76.
 37. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancers. Nature. 27 sept 2012;489(7417):519-25.
 38. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 1 mars 2018;142(3):321-46.
 39. Yarden Y, Pines G. The ERBB network: at last, cancer therapy meets systems biology. Nat Rev Cancer. août 2012;12(8):553-63.
 40. Leduc C, Merlio JP, Besse B, Blons H, Debieuvre D, Bringuier PP, et al. Clinical and molecular characteristics of non-small-cell lung cancer (NSCLC) harboring EGFR mutation: results of the nationwide French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT) program. Annals of Oncology. nov 2017;28(11):2715-24.
 41. Zhang YL, Yuan JQ, Wang KF, Fu XH, Han XR, Threapleton D, et al. The prevalence of *EGFR* mutation in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. Oncotarget. 29 nov 2016;7(48):78985-93.
 42. Xie M, Xu X, Fan Y. KRAS-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer: An Emerging Promisingly Treatable Subgroup. Front Oncol. 3 mai 2021;11:672612.
 43. Nagasaka M, Li Y, Sukari A, Ou SHI, Al-Hallak MN, Azmi AS. KRAS G12C Game of Thrones, which direct KRAS inhibitor will claim the iron throne? Cancer Treatment Reviews. mars 2020;84:101974.
 44. LUMYKRAS SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : Avis

favorable au remboursement dans le traitement des CBNPC avancés, présentant la mutation KRAS G12C, après au moins une ligne de traitement systémique antérieur. [Internet]. [cité 4 févr 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-06/lumykras_15062022_synthese_ct19740.pdf

45. Marabese M, Ganzinelli M, Garassino MC, Shepherd FA, Piva S, Caiola E, et al. KRAS mutations affect prognosis of non-small-cell lung cancer patients treated with first-line platinum containing chemotherapy.

46. Liu C, Zheng S, Jin R, Wang X, Wang F, Zang R, et al. The superior efficacy of anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in KRAS-mutant non-small cell lung cancer that correlates with an inflammatory phenotype and increased immunogenicity. *Cancer Letters*. févr 2020;470:95-105.

47. O’Leary CG, Andelkovic V, Ladwa R, Pavlakakis N, Zhou C, Hirsch F, et al. Targeting BRAF mutations in non-small cell lung cancer. *Translational Lung Cancer Research* [Internet]. déc 2019 [cité 28 janv 2023];8(6). Disponible sur: <https://tlcr.amegroups.com/article/view/33640>

48. Yan N, Guo S, Zhang H, Zhang Z, Shen S, Li X. BRAF-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer: Current Treatment Status and Future Perspective. *Front Oncol*. 31 mars 2022;12:863043.

49. Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ. ALK- rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC): ALK rearrangement in lung cancer. *Thorac Cancer*. avr 2018;9(4):423-30.

50. Lantuejoul S, Mescam-Mancini L, McLeer-Florin A. Réarrangements du gène ALK dans les cancers du poumon non à petites cellules. 2012;

51. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, Yeap BY, Shaw A, Barletta JA, et al. Unique Clinicopathologic Features Characterize ALK -Rearranged Lung Adenocarcinoma in the Western Population. *Clinical Cancer Research*. 15 août 2009;15(16):5216-23.

52. Davies KD, Le AT, Theodoro MF, Skokan MC, Aisner DL, Berge EM, et al. Identifying and Targeting ROS1 Gene Fusions in Non–Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*. 1 sept 2012;18(17):4570-9.

53. Gendarme S, Bylicki O, Chouaid C, Guisier F. ROS-1 Fusions in Non-Small-Cell Lung Cancer: Evidence to Date. *Current Oncology*. 28 janv 2022;29(2):641-58.

54. Park E, Choi YL, Ahn MJ, Han J. Histopathologic characteristics of advanced-stage ROS1-rearranged non-small cell lung cancers. *Pathology - Research and Practice*. juill 2019;215(7):152441.

55. CT-18042_XALKORI_ROS1_PIC_REEV_AvisDef_CT18042.pdf.

56. Sadiq AA, Salgia R. MET As a Possible Target for Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 10 mars 2013;31(8):1089-96.

57. Cortot AB, Kherrouche Z, Descarpentries C, Wislez M, Baldacci S, Furlan A, et al. Exon 14 Deleted MET Receptor as a New Biomarker and Target in Cancers. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* [Internet]. mai 2017 [cité 29 janv 2023];109(5). Disponible sur: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djw262>

58. Liu X, Jia Y, Stoopler MB, Shen Y, Cheng H, Chen J, et al. Next-Generation Sequencing of Pulmonary Sarcomatoid Carcinoma Reveals High Frequency of Actionable MET Gene Mutations. *JCO*. 10 mars 2016;34(8):794-802.

59. Schubart C, Stöhr R, Tögel L, Fuchs F, Sirbu H, Seitz G, et al. MET Amplification in Non-

- Small Cell Lung Cancer (NSCLC)—A Consecutive Evaluation Using Next-Generation Sequencing (NGS) in a Real-World Setting. *Cancers*. 7 oct 2021;13(19):5023.
60. XALKORI COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : RTU dans le traitement des CBNPC localement avancés ou métastatiques présentant une mutation de l'exon 14 de C-Met, après au moins une ligne de traitement systémique antérieur.
 61. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. janv 2017;541(7637):321-30.
 62. Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, Boon T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. févr 2014;14(2):135-46.
 63. Chen DS, Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity*. juill 2013;39(1):1-10.
 64. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. avr 2012;12(4):252-64.
 65. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. 1 août 2002;8(8):793-800.
 66. Noman MZ, Desantis G, Janji B, Hasmim M, Karray S, Dessen P, et al. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *Journal of Experimental Medicine*. 5 mai 2014;211(5):781-90.
 67. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*. févr 2006;439(7077):682-7.
 68. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy. *Cancer Cell*. avr 2015;27(4):450-61.
 69. Topalian SL, Taube JM, Anders RA, Pardoll DM. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. mai 2016;16(5):275-87.
 70. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. mars 2011;144(5):646-74.
 71. Parsa AT, Waldron JS, Panner A, Crane CA, Parney IF, Barry JJ, et al. Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat Med*. janv 2007;13(1):84-8.
 72. Marzec M, Zhang Q, Goradia A, Raghunath PN, Liu X, Paessler M, et al. Oncogenic kinase NPM/ALK induces through STAT3 expression of immunosuppressive protein CD274 (PD-L1, B7-H1). *Proc Natl Acad Sci USA*. 30 déc 2008;105(52):20852-7.
 73. Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of Inflammatory Response with B7-H1 Expression in Human Melanocytic Lesions Supports an Adaptive Resistance Mechanism of Immune Escape. *Sci Transl Med [Internet]*. 28 mars 2012 [cité 11 févr 2023];4(127). Disponible sur: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3003689>
 74. Vuagnat P, Champiat S. Immunothérapies anti-checkpoints : aspects fondamentaux. MISE AU POINT. 2018;
 75. Teng MWL, Ngio SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration

and PD-L1. *Cancer Research*. 1 juin 2015;75(11):2139-45.

76. Lanitis E, Irving M, Coukos G. Targeting the tumor vasculature to enhance T cell activity. *Current Opinion in Immunology*. avr 2015;33:55-63.

77. Melero I, Rouzaut A, Motz GT, Coukos G. T-Cell and NK-Cell Infiltration into Solid Tumors: A Key Limiting Factor for Efficacious Cancer Immunotherapy. *Cancer Discovery*. 1 mai 2014;4(5):522-6.

78. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet*. avr 2016;387(10027):1540-50.

79. 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. *The Lancet*. janv 2017;389(10066):255-65.

80. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, et al. Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer. *N Engl J Med*. 28 juin 2012;366(26):2455-65.

81. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med*. 28 juin 2012;366(26):2443-54.

82. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*. 27 nov 2014;515(7528):563-7.

83. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 21 mai 2015;372(21):2018-28.

84. Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. mai 2019;393(10183):1819-30.

85. KEYTRUDA SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : Avis favorable au maintien du remboursement dans CBNPC localement avancé ou métastatique dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un TPS $\geq 1\%$ [Internet]. [cité 22 févr 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-03/keytruda_cbnpc_2eme_ligne_03032021_synthese_ct17354.pdf

86. Roach C, Zhang N, Corigliano E, Jansson M, Toland G, Ponto G, et al. Development of a Companion Diagnostic PD-L1 Immunohistochemistry Assay for Pembrolizumab Therapy in Non-Small-cell Lung Cancer. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. juill 2016;24(6):392-7.

87. de Ruiter EJ, Mulder FJ, Koomen BM, Speel EJ, van den Hout MFCM, de Roest RH, et al. Comparison of three PD-L1 immunohistochemical assays in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *Modern Pathology*. juin 2021;34(6):1125-32.

88. Casadevall D, Clavé S, Taus Á, Hardy-Werbin M, Rocha P, Lorenzo M, et al. Heterogeneity of Tumor and Immune Cell PD-L1 Expression and Lymphocyte Counts in Surgical NSCLC Samples. *Clinical Lung Cancer*. nov 2017;18(6):682-691.e5.

89. Bigras G, Mairs S, Swanson PE, Morel D, Lai R, Izevbaye I. Small Biopsies Misclassify up to 35% of PD-L1 Assessments in Advanced Lung Non-Small Cell Lung Carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26(10):701-8.
90. Loi S, Adams S, Schmid P, Cortés J, Cescon DW, Winer EP, et al. Relationship between tumor infiltrating lymphocyte (TIL) levels and response to pembrolizumab (pembro) in metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): Results from KEYNOTE-086. *Annals of Oncology*. sept 2017;28:v608.
91. Niemeijer ALN, Sahba S, Smit EF, Lissenberg-Witte BI, de Langen AJ, Thunnissen E. Association of tumour and stroma PD-1, PD-L1, CD3, CD4 and CD8 expression with DCB and OS to nivolumab treatment in NSCLC patients pre-treated with chemotherapy. *Br J Cancer*. 4 août 2020;123(3):392-402.
92. Gataa I, Mezquita L, Auclin E, Le Moulec S, Alemany P, Kossai M, et al. Pathological evaluation of tumor infiltrating lymphocytes and the benefit of nivolumab in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Annals of Oncology*. sept 2017;28:v30.
93. Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative, ICGC Breast Cancer Consortium, ICGC MMML-Seq Consortium, ICGC PedBrain, Alexandrov LB, Nik-Zainal S, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 22 août 2013;500(7463):415-21.
94. Prelaj A, Tay R, Ferrara R, Chaput N, Besse B, Califano R. Predictive biomarkers of response for immune checkpoint inhibitors in non–small-cell lung cancer. *European Journal of Cancer*. janv 2019;106:144-59.
95. Doig KD, Fellowes A, Scott P, Fox SB. Tumour mutational burden: an overview for pathologists. *Pathology*. avr 2022;54(3):249-53.
96. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, Gay L, Ali SM, Ennis R, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med*. déc 2017;9(1):34.
97. Zehir A, Benayed R, Shah RH, Syed A, Middha S, Kim HR, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med*. juin 2017;23(6):703-13.
98. Penault-Llorca F. La charge mutationnelle tumorale. 2017;
99. Govindan R, Ding L, Griffith M, Subramanian J, Dees ND, Kanchi KL, et al. Genomic Landscape of Non-Small Cell Lung Cancer in Smokers and Never-Smokers. *Cell*. sept 2012;150(6):1121-34.
100. Pfeifer GP, You YH, Besaratinia A. Mutations induced by ultraviolet light. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1 avr 2005;571(1-2):19-31.
101. Dong ZY, Zhong WZ, Zhang XC, Su J, Xie Z, Liu SY, et al. Potential Predictive Value of *TP53* and *KRAS* Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. *Clinical Cancer Research*. 15 juin 2017;23(12):3012-24.
102. Briggs S, Tomlinson I. Germline and somatic polymerase ϵ and δ mutations define a new class of hypermutated colorectal and endometrial cancers. *J Pathol*. juin 2013;230(2):148-53.
103. Huang RSP, Haberberger J, Severson E, Duncan DL, Hemmerich A, Edgerly C, et al. A pan-cancer analysis of PD-L1 immunohistochemistry and gene amplification, tumor mutation

- burden and microsatellite instability in 48,782 cases. *Mod Pathol.* févr 2021;34(2):252-63.
104. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, Shah M, Shapira-Frommer R, Nakagawa K, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *The Lancet Oncology.* oct 2020;21(10):1353-65.
 105. Marcus L, Fashoyin-Aje LA, Donoghue M, Yuan M, Rodriguez L, Gallagher PS, et al. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Tumor Mutational Burden–High Solid Tumors. *Clinical Cancer Research.* 1 sept 2021;27(17):4685-9.
 106. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non–small cell lung cancer. *Science.* 3 avr 2015;348(6230):124-8.
 107. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 22 juin 2017;376(25):2415-26.
 108. Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med.* 31 mai 2018;378(22):2093-104.
 109. Galvano A, Gristina V, Malapelle U, Pisapia P, Pepe F, Barraco N, et al. The prognostic impact of tumor mutational burden (TMB) in the first-line management of advanced non-oncogene addicted non-small-cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *ESMO Open.* juin 2021;6(3):100124.
 110. Meng G, Liu X, Ma T, Lv D, Sun G. Predictive value of tumor mutational burden for immunotherapy in non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. Raza A, éditeur. *PLoS ONE.* 3 févr 2022;17(2):e0263629.
 111. Mok TSK, Lopes G, Cho BC, Kowalski DM, Kasahara K, Wu YL, et al. Associations of tissue tumor mutational burden and mutational status with clinical outcomes in KEYNOTE-042: pembrolizumab versus chemotherapy for advanced PD-L1-positive NSCLC. *Annals of Oncology.* avr 2023;34(4):377-88.
 112. Herbst RS, Lopes G, Kowalski DM, Nishio M, Wu YL, de Castro Junior G, et al. Association between tissue TMB (tTMB) and clinical outcomes with pembrolizumab monotherapy (pembro) in PD-L1-positive advanced NSCLC in the KEYNOTE-010 and -042 trials. *Annals of Oncology.* oct 2019;30:v916-7.
 113. Yarchoan M, Albacker LA, Hopkins AC, Montesion M, Murugesan K, Vithayathil TT, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers. *JCI Insight.* 21 mars 2019;4(6):e126908.
 114. Chen Y, Liu Q, Chen Z, Wang Y, Yang W, Hu Y, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden status for prediction of response to chemotherapy and targeted therapy in non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* déc 2019;38(1):193.
 115. Merino DM, McShane LM, Fabrizio D, Funari V, Chen SJ, White JR, et al. Establishing guidelines to harmonize tumor mutational burden (TMB): in silico assessment of variation in TMB quantification across diagnostic platforms: phase I of the Friends of Cancer Research TMB Harmonization Project. *J Immunother Cancer.* mars 2020;8(1):e000147.
 116. Qiu P, Poehlein CH, Marton MJ, Laterza OF, Levitan D. Measuring Tumor Mutational

Burden (TMB) in Plasma from mCRPC Patients Using Two Commercial NGS Assays. Sci Rep. déc 2019;9(1):114.

117. INCA : indication des tests moléculaires traitements de précision CBNPC.pdf.

118. recommandations-ros1-sfp-afaqap-aout-2018.pdf [Internet]. [cité 20 févr 2023]. Disponible sur: <https://www.sfpathol.org/media/pdf/recommandations-ros1-sfp-afaqap-aout-2018.pdf>

119. Marchetti A, Di Lorito A, Pace MV, Iezzi M, Felicioni L, D'Antuono T, et al. ALK Protein Analysis by IHC Staining after Recent Regulatory Changes: A Comparison of Two Widely Used Approaches, Revision of the Literature, and a New Testing Algorithm. Journal of Thoracic Oncology. avr 2016;11(4):487-95.

120. Thunnissen E, Kerr KM, Herth FJF, Lantuejoul S, Papotti M, Rintoul RC, et al. The challenge of NSCLC diagnosis and predictive analysis on small samples. Practical approach of a working group. Lung Cancer. avr 2012;76(1):1-18.

121. Poulet G, Taly V. PCR digitale : principe et applications. 2018;

122. Bourhis A, Remoué A, Samaison L, Uguen A. Diagnostic mutationnel rapide Idylla™ : applications théranostiques actuelles et futures. Annales de Pathologie. juill 2022;42(4):329-43.

Article

Comprehensive Genomic profiling

A preliminary study of 26 cases of non-squamous non-small cell lung carcinoma with high PD-L1 expression

Abstract

Background : Targeted DNA and RNA panels routinely used for molecular characterization of metastatic non-squamous lung carcinoma (NSCLC) identify only mutations and rearrangements of interest. Comprehensive genomic profiling provides broader information such as tumor mutational burden (TMB) that may be useful in predicting response to immunotherapy (IT).

Methods: In this retrospective study, we included 26 PD-L1 $\geq$ 50% NSCLC diagnosed in the pathology department of the Dijon University Hospital. The results of a large CGP panel were compared with those of the routinely used DNA and RNA panels. Then, TMB and other potential biomarkers (CD8+ TILs and lymphoid nodules) were correlated with response to IT.

Results: All routinely detected mutations were identified by the CGP panel. In 12 cases, one or more additional mutations without theranostic impact were also present. Among our 26 cases, 15 had a TMB $\geq$ 10 mut/Mb. Among the 15 patients treated with immunotherapy, all cases with high TMB responded.

Conclusion: This study confirms that the CGP panel yields results comparable to routine DNA and RNA panels even for small biopsies. All patients with TMB $\geq$ 10 mut/Mb responded to immunotherapy. Although not all responders had high TMB, mutational load may represent a predictive biomarker of response to immunotherapy that can be used in clinical practice.

Introduction

Lung cancer is a major public health problem with 2.2 million cases diagnosed and 1.8 million deaths worldwide in 2020 according to the WHO. It remains the most deadly cancer, responsible for almost one in five cancer-related deaths (1). Non-small cell lung carcinoma (NSCLC) accounts for about 85% of cases. (2)

Metastatic NSCLC has benefited from the identification of tumor oncogenic alterations (*EGFR* mutation or rearrangement in *ALK* or *ROS1* genes), allowing the prescription of effective targeted therapy in patients with one of these molecular alterations (3,4). Nevertheless, for patients without molecular alterations, chemotherapy remained the only available treatment.

Immunotherapy (IT) targeting immune checkpoint (IC) can now be offered in patients without molecular actionable alteration. PEMBROLIZUMAB, a monoclonal antibody targeting PD-1, has proven to be effective in metastatic NSCLC (5–8) and can be prescribed in first-line of treatment. Other monoclonal antibodies, such as NIVOLUMAB (also an anti-PD1) or ATEZOLUMAB (an anti-PD-L1), are also available from the second line of treatment. Recently, CEMIPILIMAB (an anti-PD-1) and ATEZOLUMAB can now be prescribed as first-line therapy in France.

Response to IT is however heterogeneous, and requires the use of biomarkers to select patients most likely to respond favorably. The expression by tumor cells of the transmembrane protein PD-L1, evaluated and quantified by immunohistochemical staining, is currently the only validated biomarker for the prescription of PEMBROLIZUMAB in first line of treatment (9) or in subsequent lines (10). It remains an imperfect predictive marker of efficacy, which is partly explained by the dynamic and heterogeneous expression of the protein (11).

Furthermore, although PEMBROLIZUMAB as a single agent has demonstrated superiority in the treatment of metastatic NSCLC over chemotherapy in PD-L1 $\geq 50\%$ tumors, its non-inferiority regarding the combination of chemotherapy with PEMBROLIZUMAB remains to be proven (12). There is currently no specific recommendation in this situation. (4)

Tumor mutational burden (TMB) is an emerging biomarker, corresponding to the number of somatic mutations per megabase (Mb) of tumor DNA. Since its initial description by Alexandrov et al (13), numerous studies have shown a relationship between TMB and response to IT, suggesting that TMB may be a predictive biomarker for the efficacy of immunotherapy.

The KEYNOTE 158 study demonstrated in a large cohort of several cancer types (but without NSCLC) that a high TMB, defined as ≥ 10 mut/Mb was associated with a higher proportion of PEMBROLIZUMAB responder patients (14). This study allowed the U.S. Federal Drug Administration (FDA) to approve in 2020 TMB ≥ 10 mut/Mb as a biomarker for prescribing PEMBROLIZUMAB from the 2nd line of solid cancers without other therapeutic alternatives. (15)

In NSCLC, the association between TMB and response to PEMBROLIZUMAB in monotherapy was demonstrated by Rizvi et al. in 2015 (7). This study demonstrated that the mean TMB, sequenced retrospectively in previously treated patients, was higher in durable responders (durable clinical benefit) to PEMBROLIZUMAB compared to non-responders or transient responders (no durable benefit). The CheckMate 026 study in 2017 described a similar association between TMB and response to NIVOLUMAB (in terms of progression-free survival) (16).

Subsequently, the CheckMate 227 study compared the combination of NIVOLUMAB + IPILIMUMAB with chemotherapy in first-line management of patients with stage 4 NSCLC and $TMB \geq 10$ mut/Mb. This combination of IT showed better results in terms of response to treatment and progression-free survival, but failed to demonstrate better overall survival (OS) (17).

Only very large meta-analyses have demonstrated the OS benefit of IT over standard chemotherapy in NSCLC with high TMB. However, the calculation method or the threshold used to define high TMB was not the same in all studies (18,19). In contrast, the retrospective analysis including the Keynote 010 (6) and 042 series (20), highlighted that high TMB in the TPS group $\geq 1\%$ was associated with better OS (21).

These results are particularly interesting because there is no significant association between PD-L1 expression and TMB (22,23), suggesting that TMB would be an independent predictor of IT efficacy, and could be a complementary biomarker to PD-L1 expression to better select patients likely to respond to IT alone in first line.

By definition, the measurement of TMB comes from whole exome analysis (WES). This is done by next generation sequencing (NGS), targeting the coding part of the genome (1% of the genome, i.e. approximately 30 Mb) (24). Nevertheless, its numerous constraints, including its cost, limit the routine use of tumor WES. Therefore, smaller panels called "CGP" (comprehensive genomic profiling) have been set up to measure TMB. These panels have proven the non-inferiority as well as the reproducibility of with respect to WES.(25,26)

Among CGPs, the Foundation One CDx test (Roche) covers a large number of genes associated with solid cancers (324 genes by sequencing 0.8 Mb), including proto-oncogenes and genes predictive of efficacy and/or resistance to certain therapies. It also allows the identification of chromosomal rearrangements that are usually not detectable by the DNA panels used in current practice.

The AVENIO Tumor Tissue CGP kit provides the same results as the Foundation One CDx test. Its main difference is that the molecular laboratory performs the "wet-lab" part, while the bioinformatics part is done on Roche's servers.

The primary objective of this study is the comparison of the molecular information provided by the Avenio CGP assay compared with our current strategy (DNA NGS + RNA NGS) in a cohort of 26 non-squamous NSCLC PD-L1 $\geq 50\%$. Then, we want to check, if a high TMB can predict the response to ICB in patients treated by IT.

Material and methods

Study design and case selection

In this preliminary retrospective and observational study conducted at the University Hospital of Dijon, 26 non-squamous NSCLC diagnosed between January 1, 2021 and October 31, 2022 were included.

The inclusion criteria were :

- Non-operable stage III or stage IV NSCLC
- Biopsy with sufficient amount of tumor
- Histological diagnosis of non-squamous non-small cell lung carcinoma.
- Expression of PD-L1 $\geq 50\%$.
- No actionable molecular alteration in 1st line of treatment

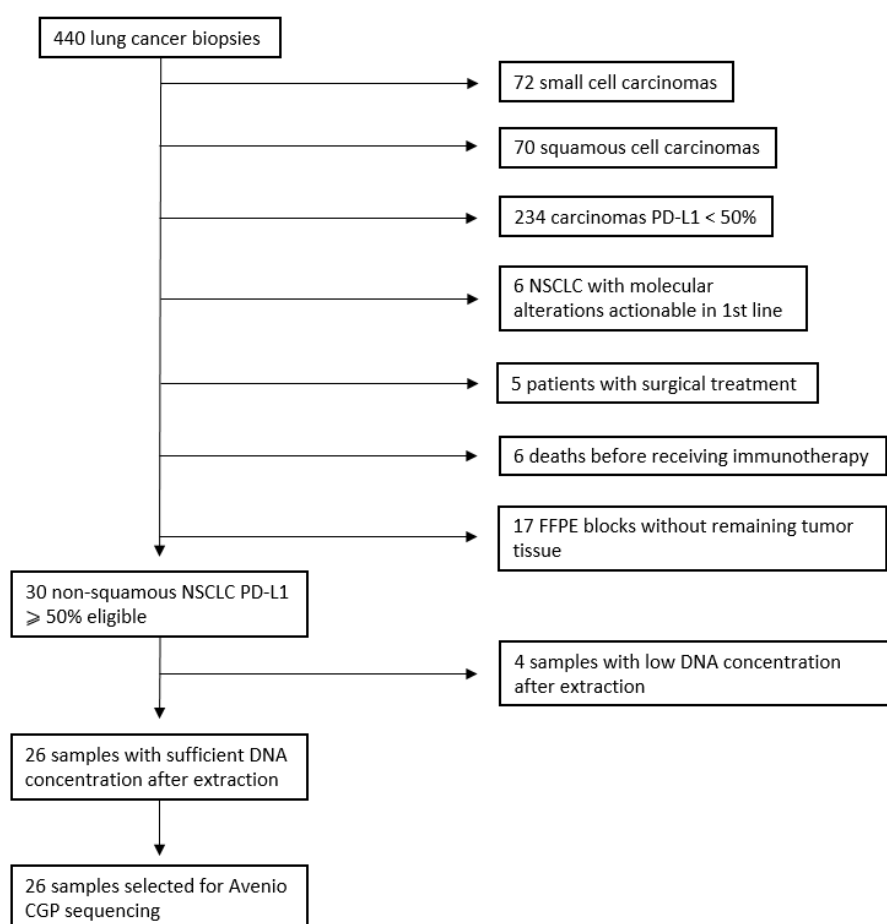


Figure 1 : Flowchart of sample enrolled in this study and reasons for exclusion

Nine out of the 26 selected patients did not receive immunotherapy alone or had side effects requiring discontinuation of treatment. For 2 patients, informations about the treatment could not be obtained. The molecular and clinical data of these patients were analyzed, but they were not included for the evaluation of response to IT.

Patient and tumor data

Clinical data were collected retrospectively from digitalized patient files. Information about patients followed up in other centers was obtained from the referring clinician.

The clinical data included patients demographics (age, sex, smoking status), treatment and response to treatment. Patients were classified as "responders" if they had stable lesions and/or a partial response on imaging. On the other hand, patients whose lesion progressed on treatment, or who developed new lesions were classified as "non-responders".

Tumor data included histological type, TPS (PD-L1), density of CD8+ TIL (low, moderate or high), and presence or absence of tertiary lymphoid structure and molecular alterations including mutation or rearrangement in *EGFR*, *KRAS*, *TP53*, *ALK*, *ROS1*, *NTRK*, *NRG1*, *RET*, *MET*, *ERBB2*, *CDKN2A*, *BRAF*, and *TERT* genes.

Extraction of nucleic acids

After selection of a region rich in tumor cells, DNA was extracted from tissue sections (8*10 µm) using the Maxwell 16 LEV FFPE DNA purification kit (Promega, *Madison, WI*) following the manufacturer's instructions.

The amount of extracted DNA was evaluated by a fluorometric method with a Qubit device (Thermo Fisher Scientific, *Waltham, MA*).

With the exception of two cases, Avenio CGP and routine NGS were performed with different nucleic acid extractions coming from areas of the tumor with different percentage of malignant cells.

Avenio CGP Panel Sequencing

Sequencing on the large panel known as "CGP" and the measurement of TMB were carried out using "pair-end" sequencing on a NextSeq500 (Illumina, *San Diego, CA*). The constitution of the libraries and the enrichment of the material were carried out using the "AVENIO Tumor Tissue CGP kit", from the tumor DNA extracted beforehand.

Once sequencing was completed, the FASTQ files were transmitted to ROCHE servers for secondary and tertiary analysis.

The list of genes included in the CGP panel for the detection of substitutions, insertions-deletions or copy number variation is available in appendix 1. The list of genes included in this panel for the detection of rearrangements or intronic mutations are listed in appendix 2.

Routine NGS

Routine molecular results were obtained from paired-end sequencing on the NextSeq500 (Illumina) using the Solid Tumor Solution (STS) panel (DNA), and Solid Tumor Solution Plus (STS plus) panel (RNA) (Sophia Genetics, *Rolle, Switzerland*). The list of genes included in these two panels is available in appendix 3.

Molecular data classification

Molecular alterations detected with the different molecular techniques were classified according to the ACMG/AMP classification into five categories: "pathogenic" (class 5), "probably pathogenic" (class 4), "of uncertain significance" (class 3), "probably benign" (class 2) and "benign" (class 1).

Among these molecular alterations, only class 4 and 5 were retained for interpretation and reported in the final report.

Results

Clinical, pathological and molecular characteristics of patients and tumors

Patients' and tumor characteristics are presented in table 1.

	Population (n = 26)
Clinical characteristics n (%)	
Male gender	18 (69%)
Mean age at diagnosis, [extreme] years	65 [39 - 85]
Follow-up at Dijon University Hospital, n (%)	14 (54%)
Smoking status	
Active smoking	9 (35%)
Pack-years, mean [extrême]	37,4 [5 – 90]
Therapeutic treatment	
Patients treated with monotherapy IT	15
Responders to IT	13 (87%)
Histological type	
Adenocarcinoma	22 (85%)
Non-small cell lung carcinoma NOS	3 (12%)
Non-small cell lung carcinoma with loss of SMARCA4 expression	1 (3%)
Sample characteristics	
Primary / metastasis	24 (92%) / 2 (8%)
Immune characteristics	
TPS, mean [extremes]	77 [50 - 100]
CD8+ TIL infiltrate $\geq$ moderate	7 (27%)
Presence of tertiary lymphoid structure	0 (0%)
Molecular alterations known at inclusion	
<i>KRAS</i> mutation	14 (54%)
<i>TP53</i> mutation	22 (85%)
<i>CDKN2A</i> mutation	6 (23%)
<i>MET</i> mutation	2 (8%)
<i>BRAF</i> mutation	2 (8%)
<i>TERT</i> mutation (promoter)	1 (4%)

Table 1. Characteristics of patients and tumors. Molecular alterations were identified by routine NGS panels. *POLE*, *KEAP1* and *STK11* genes were not part of the "routine" DNA NGS panel until the end of 2022. Their status was therefore unknown at inclusion. No molecular alterations were identified by routine targeted RNAseq.

Concordance between CGP and STS panels

All 26 tumors were successfully sequenced by the Avenio CGP test. All class 4 or 5 molecular alterations already identified by routine testing were detected. The mutations identified by

the Avenio CGP test in *KRAS*, *TP53*, *CDKN2A*, *MET*, *BRAF* and *TERT* (promoter) were the same as those identified by the routine DNA panel (table 1).

The correlation of the allelic frequencies of the identified mutations is moderate (Pearson correlation of 0.5058) (Figure 2). This correlation is related to the variable percentage of tumor cells between the extraction used for the routine test and the Avenio CGP panel (mean difference: 11%; standard deviation: 15% and Pearson correlation of 0.285)(Figure 3).

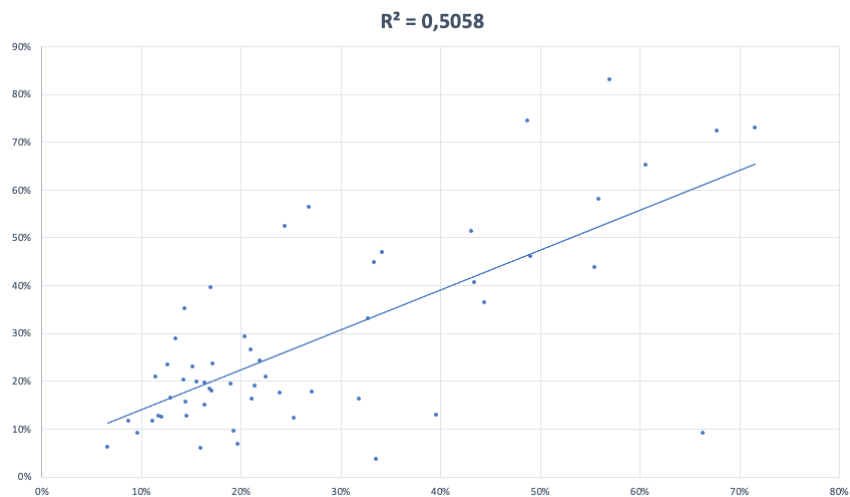


Figure 2: Correlation curve between the allele frequencies of variants identified by the Avenio CGP test and the routine DNA panel

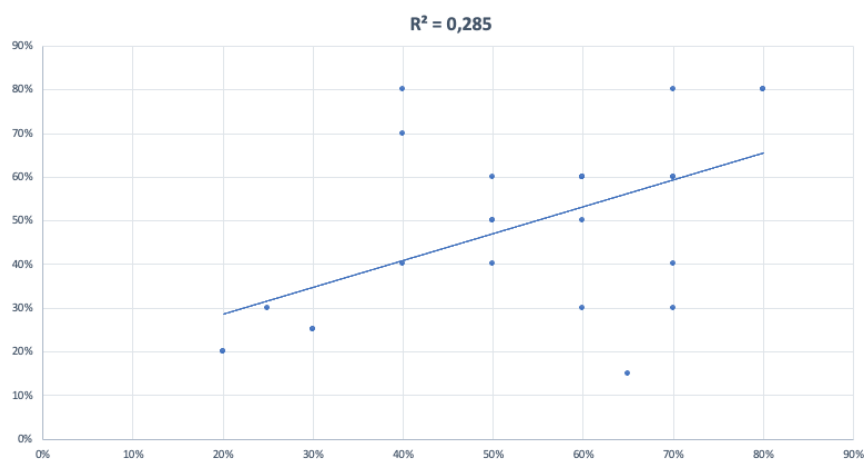


Figure 3 : Correlation curve between the tumor cellularity percentages of the nucleic acid extractions used by the Avenio CGP test and the routine DNA panel

For 12 tumors (46%), the Avenio CGP test also identified additional class 4 or 5 variants. All of these alterations are in genes or exons that were not covered by the routine panel. Removing the *KEAP1*, *STK11* and *POLE* mutations ($n = 4$) now included in the routine panel, the number of tumors with variants identified only on the Avenio CGP test is 9 (35%). None of these variants had theranostic or prognostic impact. No loss of heterozygosity or microsatellite instability was detected.

By design, the concordance rate between the two tests is therefore 100%.

The overall concordance rate between the two tests in relation to all mutations reported is 78%. This rate would rise to 84% if genes now covered by the routine panel (KEAP1, STK11 and POLE) are not included. The molecular data and their comparison are presented in appendix 4.

TMB

TMB mean of the 26 NSCLC included in the study was 11.56 ± 6.6 mut/Mb. Patients were separated into 2 groups according to their TMB level. There was 11 tumors with low TMB < 10 mut/Mb (42%) and 15 tumors with high TMB ≥ 10 mut/Mb (58%).

Table 2 shows the characteristics of patients and tumors according to TMB.

	TMB low (< 10 mut/Mb) (n= 11)	TMB high (≥ 10 mut/Mb) (n= 15)
Clinical characteristics		
Male gender, n (%)	9 (82%)	9 (60%)
Mean age at diagnosis, [extreme] years	70,4 [50 – 85]	65,5 [39 – 79]
Smoking status in pack-years, mean [extrême]	41,6 [16 – 90]	34,4 [5 – 70]
Responders to IT (% among patients treated with monotherapy IT)	75%	100%
Histological type, n (%)		
Adenocarcinoma	9 (82%)	13 (86,6%)
Non-small cell lung carcinoma NOS	2 (18%)	1 (6,7%)
Non-small cell lung carcinoma with loss of SMARCA4 expression	0	1 (6,7%)
Immune characteristics		
TPS, mean [extreme]	74% [50 – 100]	79% [60 – 98]
CD8+ TIL infiltrate $\geq$ moderate, n (%)	4 (36%)	3 (20%)
Molecular alterations n (%)		
KRAS mutation	5 (45%)	9 (60%)
TP53 mutation	9 (82%)	13 (86,6%)
POLE mutation	0	1 (6,7%)

Table 2. Clinical, pathological and molecular characteristics of patients according to their TMB. The clinicopathological characteristics of these two groups did not differ significantly except for a slightly lower level of smoking and a higher prevalence of KRAS mutation in the group with high TMB. The rate of responder to IT in the group high TMB was 100%, whereas it was 75% in the group with low TMB.

Among the group with high TMB, 3 samples presented a TMB ≥ 20 mut/Mb, level called “very-high TMB”. These patients were all active or weaned smokers, with an average pack-year of 22. Molecularly, the prevalence of KRAS mutations in this group is 67%, and 100% for TP53. The only tumor with a mutation of the DNA replication gene POLE belongs to this group.

Response to immunotherapy in monotherapy

Fifteen out of the 26 patients were reported treated by IT. There was no hyperprogression at the introduction of the treatment.

Table 3 shows the characteristics of patients and tumors according to the response to IT

	Responders (n = 13)	Non-responders (n = 2)
Clinical characteristics		
Male gender, n (%)	9 (69%)	2 (100%)
Mean age at diagnosis, [extreme] years	65 [39 – 81]	79 [73 - 85]
Smoking status in pack-years, mean [extrême]	34,1 [5 – 55]	57,5 [25 – 90]
Histological type, n (%)		
Adenocarcinoma	11 (84 %)	1 (50 %)
Non-small cell lung carcinoma NOS	1 (8 %)	1 (50 %)
Non-small cell lung carcinoma with loss of SMARCA4 expression	1 (8 %)	0
Immune characteristics		
TPS, mean [extreme]	84 [50 – 100]	70 [60 – 80]
CD8+ TIL infiltrate $\geq$ moderate, n (%)	4 (31 %)	1 (50 %)
Molecular alterations		
TMB, mean [extrême]	12,16 [6,3 – 22,7]	1,89 [1,26 - 2,25]
KRAS mutation, n (%)	8 (62 %)	0
TP53 mutation, n (%)	11 (85 %)	2 (100 %)
STK11 mutation, n (%)	1 (8 %)	0
KEAP1 mutation, n (%)	2 (15 %)	0
KRAS-KEAP1 co-mutation	1 (8 %)	0

Table 3. Clinical, pathological and molecular characteristics of patients according to their response to IT. Mean TMB was 12.16 mut/Mb in the responder group and 1.89 mut/Mb in the non-responder group. TMB of the tumor of the 2 non responders was 1.26 and 2.25 mut/Mb, the lowest of the study.

Discussion

Our study demonstrates that CGP can be done on small biopsy specimens already used for routine molecular biology tests. Among the 29 pre-selected samples, only 3 were excluded because the tumor DNA was not concentrated enough to allow the realization of the Avenio CGP test.

The Avenio CGP panel allowed the measurement of TMB for all patients, while providing concordant information in comparison to the routine tests already performed. All mutations identified by the routine DNA panel were also identified by the Avenio CGP. The concordance in terms of allelic frequencies (VAF) is medium (Pearson correlation of 0.5058). This rate can be explained in part by the fact that the tests were performed on different DNA extractions, which were themselves performed on different areas of the tumor with a different percentage of malignant cells. Nevertheless, both tests identify the same mutations with a 100% concordance rate by design.

Some additional mutations were also identified by the Avenio CGP test, that couldn't be identified with our panel DNA panel because of its more restricted design. All of these additional mutations had no particular therapeutic or prognostic impact. In practice, their research is not included in the recent recommendations of the French National Cancer Institute (27)

The Avenio CGP panel allows the detection of rare molecular alterations compared to targeted techniques. A rare not actionable *BRAF* variant [p.(Ala246Pro)], was identified in a patient of our series. An atypical *ALK-EML4* transcript and an amplification of *ERBB2* were also detected in tumors not included in this study (personal data). According to these preliminary data, AVENIO CGP test is a good candidate for the replacement of targeted DNA and RNA panels currently used in our laboratory.

The mean TMB of our cohort is high (mean of 11.56 ± 6.6 mut/Mb). We identified 15 tumors (58%) with a TMB defined as high (≥ 10 mut/Mb), a threshold reported as an independent criterion for response to IT. The rate of NSCLC above this threshold is usually lower in the literature, reported between 40 and 44%. (17,20,28)

The small number of cases and the large number of IT responders (87 %) explain in part this observation. Additionally, a high prevalence ($> 50\%$) of *KRAS* mutation (54% in our study) was associated with high TMB (29). Finally, the tumor with the highest TMB (30.26 mut/Mb) had a mutation in *POLE*, a gene involved in DNA replication and known to be associated with high TMB. (30)

Among the 26 tumors, 3 had a very-high TMB ≥ 20 mut/Mb. Recent publications suggest that this threshold could identify patients in whom IT without chemotherapy could be considered, even in the setting of low PD-L1 levels (28,31). Huang et al. highlights that response to IT (as monotherapy or with chemotherapy) in NSCLC with TMB ≥ 20 mut/Mb is superior to the 10-19 mut/Mb and < 10 mut/Mb groups, whereas the response of the latter two groups is not

different (28). In our study, the 3 patients with very high TMB responded to PEMBROLIZUMAB (associated with perimetrexed in one patient).

In contrast, the two patients with the lowest TMB (1.26 and 2.25 mut/Mb) did not respond to IT in monotherapy. These results are particularly interesting, reinforcing the idea that TMB could allow a better selection of potential responders to IT alone. Nevertheless, a larger cohort is necessary to confirm the trend that emerges from these preliminary data.

Surprisingly, *STK11* or *KEAP1* mutations were identified only in patients who responded to IT. Studies have shown that *KEAP1* and/or *STK11* mutations, associated with *KRAS* mutation in NSCLC, could be a predictive factor for a poorer response to IT (32), or even prognosis (33). Our cohort includes one patient with a *KEAP1* mutation associated with a *KRAS* mutation, and two with a *STK11* or a *KEAP1* mutation without a *KRAS* co-mutation. Both patients were treated with PEMBROLIZUMAB and showed a durable response to treatment.

If the amount of tissue or the quality of DNA is not sufficient, TMB could be determined by "liquid biopsy". The determination of TMB from circulating tumor DNA would however require the use of specific validated panels and high sequencing capacities. The FoundationOne Liquid CDx (Roche) (34) could be used for this purpose.

Other histological and immunohistochemical biomarkers of response to IT were investigated in this study, but no difference between responders and non-responders could be demonstrated. Semi quantitative evaluation of CD8+ TIL was not different in the responder group compared to the non-responder group.

No tertiary lymphoid structures were found in any of the biopsies analyzed in our study. The presence of tertiary lymphoid structures within or around the tumor is an indicative of a chronic inflammation. Their presence and density correlates with a favorable prognosis in many cancers, as well as with a response to IT (35,36). We assume that the small size of the samples does not allow their identification. Their detection is more efficient on surgical samples and seems more appropriate.

Richard et al. highlighted that, in addition to TMB, Alexandrov's 1A and 1B molecular signatures (age-related molecular signatures) as well as low TCR clone number are associated with superior progression-free survival in NSCLC (37). However, these biomarkers are not rendered by the Avenio CGP test.

Additionally, the detection of tumor neo-antigens could be a predictive marker of response to IT. Some studies tried to identify the immunogenicity of mutations. However, this assessment is not possible in routine. In the future we assume that progress in bioinformatics, modeling of neoantigens and prediction of interactions with the immune system (38,39) could improve TMB by "neoepitope loading" (40) or by a more complex algorithm (41) and thus become more accurate in the prediction of tumor response to IT.

Our study has several limitations. The small number of patients prevents statistical comparison between groups. The determination of the responder or non-responder status of

the patients is only binary, without evaluation of the duration of response to treatment. Finally, the comparative molecular analysis did not take into account gene amplifications and deletions due to the absence of a BAM files when the Avenio CGP test data were received.

Conclusion

This preliminary study shows that comprehensive genomic profiling (CGP) can be performed on small sample sizes and that it gives results comparable to those of targeted panels (DNA and RNA) used routinely. Eventually, the CGP panel could replace them.

Among the 15 patients who received immunotherapy alone, all cases with high (>10 mut/MB) or very high (>20 Mut/Mb) TMB responded. However, not all responding patients had high TMB. The other potential biomarkers (CD8+ TIL and lymphoid nodules) evaluated in this work, often absent on these small tissue biopsies, were not informative.

THESE SOUTENUE PAR M Basile CHALOT

CONCLUSIONS

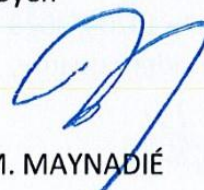
Ce travail préliminaire montre qu'un profilage génomique extensif (CGP) peut être réalisé sur des échantillons de petite taille et qu'il donne des résultats comparables à ceux des panels ciblés (ADN est ARN) utilisés en routine. À terme, le panel CGP pourrait les remplacer. Parmi les 15 patients ayant reçus une immunothérapie seule, tous les cas avec TMB élevée (>10 mut/MB) ou très élevée (>20 Mut/Mb) ont répondu. Toutefois, tous les patients répondeurs n'avaient pas tous une TMB élevée. Les autres biomarqueurs potentiels (TIL CD8+ et nodules lymphoïdes) évalués dans ce travail, souvent absents sur ces biopsies tissulaires de petite taille n'étaient pas informatifs.

Le Président du jury,



Pr. L MARTIN

Vu et permis d'imprimer
Dijon, le 13 Avril 2023
Le Doyen



Pr. M. MAYNADIÉ

References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA A Cancer J Clin.* mai 2021;71(3):209-49.
2. Board WC of TE. Thoracic Tumours, WHO Classification of Tumours, 5th Edition [Internet]. [cité 26 févr 2023]. Disponible sur: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Thoracic-Tumours-2021>
3. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* oct 2018;29:iv192-237.
4. Couraud PS. Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique. 2022;
5. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csősi T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 10 nov 2016;375(19):1823-33.
6. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet.* avr 2016;387(10027):1540-50.
7. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 21 mai 2015;372(21):2018-28.
8. Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *The Lancet.* mai 2019;393(10183):1819-30.
9. KEYTRUDA SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : AMM en monothérapie dans le traitement de 1ère ligne des CBPNPC métastatique exprimant PDL1, sans mutation tumorale d'EGFR ou d'ALK. [Internet]. [cité 8 janv 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2018-07/keytruda_cbnpc_1ligne_synthese_ct15941.pdf
10. KEYTRUDA SYNTHÈSE D'AVIS DE LA COMMISSION DE LA TRANSPARENCE : Avis favorable au maintien du remboursement dans CBNPC localement avancé ou métastatique dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un TPS $\geq 1\%$ [Internet]. [cité 22 févr 2023]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-03/keytruda_cbnpc_2eme_ligne_03032021_synthese_ct17354.pdf
11. Casadevall D, Clavé S, Taus Á, Hardy-Werbin M, Rocha P, Lorenzo M, et al. Heterogeneity of Tumor and Immune Cell PD-L1 Expression and Lymphocyte Counts in Surgical NSCLC Samples. *Clinical Lung Cancer.* nov 2017;18(6):682-691.e5.
12. Descourt R, Chouaid C, Pérol M, Besse B, Greillier L, Bylicki O, et al. First-line pembrolizumab with or without platinum doublet chemotherapy in non-small-cell lung cancer patients with PD-L1 expression ≥ 50 . *Future Oncol.* août 2021;17(23):3007-16.
13. Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative, ICGC Breast Cancer Consortium, ICGC MMML-Seq Consortium, ICGC PedBrain, Alexandrov LB, Nik-Zainal S, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 22 août 2013;500(7463):415-21.

14. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, Shah M, Shapira-Frommer R, Nakagawa K, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *The Lancet Oncology*. oct 2020;21(10):1353-65.
15. Marcus L, Fashoyin-Aje LA, Donoghue M, Yuan M, Rodriguez L, Gallagher PS, et al. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Tumor Mutational Burden–High Solid Tumors. *Clinical Cancer Research*. 1 sept 2021;27(17):4685-9.
16. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 juin 2017;376(25):2415-26.
17. Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med*. 31 mai 2018;378(22):2093-104.
18. Galvano A, Gristina V, Malapelle U, Pisapia P, Pepe F, Barraco N, et al. The prognostic impact of tumor mutational burden (TMB) in the first-line management of advanced non-oncogene addicted non-small-cell lung cancer (NSCLC): a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *ESMO Open*. juin 2021;6(3):100124.
19. Meng G, Liu X, Ma T, Lv D, Sun G. Predictive value of tumor mutational burden for immunotherapy in non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. Raza A, éditeur. *PLoS ONE*. 3 févr 2022;17(2):e0263629.
20. Mok TSK, Lopes G, Cho BC, Kowalski DM, Kasahara K, Wu YL, et al. Associations of tissue tumor mutational burden and mutational status with clinical outcomes in KEYNOTE-042: pembrolizumab versus chemotherapy for advanced PD-L1-positive NSCLC. *Annals of Oncology*. avr 2023;34(4):377-88.
21. Herbst RS, Lopes G, Kowalski DM, Nishio M, Wu YL, de Castro Junior G, et al. Association between tissue TMB (tTMB) and clinical outcomes with pembrolizumab monotherapy (pembro) in PD-L1-positive advanced NSCLC in the KEYNOTE-010 and -042 trials. *Annals of Oncology*. oct 2019;30:v916-7.
22. Yarchoan M, Albacker LA, Hopkins AC, Montesion M, Murugesan K, Vithayathil TT, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers. *JCI Insight*. 21 mars 2019;4(6):e126908.
23. Chen Y, Liu Q, Chen Z, Wang Y, Yang W, Hu Y, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden status for prediction of response to chemotherapy and targeted therapy in non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. déc 2019;38(1):193.
24. Merino DM, McShane LM, Fabrizio D, Funari V, Chen SJ, White JR, et al. Establishing guidelines to harmonize tumor mutational burden (TMB): in silico assessment of variation in TMB quantification across diagnostic platforms: phase I of the Friends of Cancer Research TMB Harmonization Project. *J Immunother Cancer*. mars 2020;8(1):e000147.
25. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, Gay L, Ali SM, Ennis R, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med*. déc 2017;9(1):34.
26. Zehir A, Benayed R, Shah RH, Syed A, Middha S, Kim HR, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med*.

juin 2017;23(6):703-13.

27. INCA : indication des tests moléculaires traitements de précision CBNPC.pdf.
28. Huang RSP, Carbone DP, Li G, Schrock A, Graf RP, Zhang L, et al. Durable responders in advanced NSCLC with elevated TMB and treated with 1L immune checkpoint inhibitor: a real-world outcomes analysis. *J Immunother Cancer*. janv 2023;11(1):e005801.
29. Liu C, Zheng S, Jin R, Wang X, Wang F, Zang R, et al. The superior efficacy of anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in KRAS-mutant non-small cell lung cancer that correlates with an inflammatory phenotype and increased immunogenicity. *Cancer Letters*. févr 2020;470:95-105.
30. Briggs S, Tomlinson I. Germline and somatic polymerase ϵ and δ mutations define a new class of hypermutated colorectal and endometrial cancers. *J Pathol*. juin 2013;230(2):148-53.
31. Ricciuti B, Wang X, Alessi JV, Rizvi H, Mahadevan NR, Li YY, et al. Association of High Tumor Mutation Burden in Non-Small Cell Lung Cancers With Increased Immune Infiltration and Improved Clinical Outcomes of PD-L1 Blockade Across PD-L1 Expression Levels. *JAMA Oncol*. 1 août 2022;8(8):1160.
32. Ricciuti B, Arbour KC, Lin JJ, Vajdi A, Vokes N, Hong L, et al. Diminished Efficacy of Programmed Death-(Ligand)1 Inhibition in STK11- and KEAP1-Mutant Lung Adenocarcinoma Is Affected by KRAS Mutation Status. *Journal of Thoracic Oncology*. mars 2022;17(3):399-410.
33. Kus T, Aktas G. Letter to the Editor Concerning Diminished Efficacy of Programmed Death-(Ligand) 1 Inhibition in STK11- and KEAP1-Mutant Lung Adenocarcinoma Is Affected by KRAS Mutation Status. *Journal of Thoracic Oncology*. juin 2022;17(6):e63-4.
34. Woodhouse R, Li M, Hughes J, Delfosse D, Skoletsky J, Ma P, et al. Clinical and analytical validation of FoundationOne Liquid CDx, a novel 324-Gene cfDNA-based comprehensive genomic profiling assay for cancers of solid tumor origin. Ha P, éditeur. *PLoS ONE*. 25 sept 2020;15(9):e0237802.
35. Sautès-Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, Fridman WH. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. juin 2019;19(6):307-25.
36. Vanhersecke L, Brunet M, Guégan JP, Rey C, Bougouin A, Cousin S, et al. Mature tertiary lymphoid structures predict immune checkpoint inhibitor efficacy in solid tumors independently of PD-L1 expression. *Nat Cancer*. 12 août 2021;2(8):794-802.
37. Richard C, Fumet JD, Chevrier S, Derangère V, Ledys F, Lagrange A, et al. Exome Analysis Reveals Genomic Markers Associated with Better Efficacy of Nivolumab in Lung Cancer Patients. *Clinical Cancer Research*. 1 févr 2019;25(3):957-66.
38. Finotello F, Rieder D, Hackl H, Trajanoski Z. Next-generation computational tools for interrogating cancer immunity. *Nat Rev Genet*. déc 2019;20(12):724-46.
39. Richters MM, Xia H, Campbell KM, Gillanders WE, Griffith OL, Griffith M. Best practices for bioinformatic characterization of neoantigens for clinical utility. *Genome Med*. déc 2019;11(1):56.
40. Penault-Llorca F. La charge mutationnelle tumorale. 2017;
41. Doig KD, Fellowes A, Scott P, Fox SB. Tumour mutational burden: an overview for pathologists. *Pathology*. avr 2022;54(3):249-53.

Supplementary data

Appendix 1 : List of genes selected in the Avenio CGP panel for the detection of substitutions, insertion-deletions or CNAs

ABL1	ACVR1B	AKT1	AKT2	AKT3	ALK	ALOX12B	AMER1(FAM123B)	APC
AR	ARAF	ARFRP1	ARID1A	ASXL1	ATM	ATR	ATRX	AURKA
AURKB	AXIN1	AXL	BAP1	BAR1	BCL2	BCL2L1	BCL2L2	BCL6
BCOR	BCORL1	BRAF	BRCA1	BRCA2	BRD4	BRIP1	BTG1	BTG2
BTK	C11ORF30(EMSY)	CALR	CARD11	CASP8	CBFB	CBL	CCND1	CCND2
CCND3	CCNE1	CD22	CD274(PD-L1)	CD70	CD79A	CD79B	CDC73	CDH1
CDK12	CDK4	CDK6	CDK8	CDKN1A	CDKN1B	CDKN2A	CDKN2B	CDKN2C
CEBPA	CHEK1	CHEK2	CIC	CREBBP	CRKL	CSF1R	CSF3R	CTCF
CTNNA1	CTNNB1	CUL3	CUL4A	CXCR4	CYP17A1	DAXX	DDR1	DDR2
DIS3	DNMT3A	DOT1L	EED	EGFR	EP300	EPHA3	EPHB1	EPHB4
ERBB2	ERBB3	ERBB4	ERCC4	ERG	ERRF1	ESR1	EZH2	FAM46C
FANCA	FANCC	FANCG	FANCL	FAS	FBXW7	FGF10	FGF12	FGF14
FGF19	FGF23	FGF3	FGF4	FGF6	FGFR1	FGFR2	FGFR3	FGFR4
FH	FLCN	FLT1	FLT3	FOX12	FUBP1	GABRA6	GATA3	GATA4
GATA6	GID4(C17ORF39)	GNA11	GNA13	GNAQ	GNAS	GRM3	GSK3B	H3F3A
HDAC1	HGF	HNF1A	HRAS	HSD3B1	ID3	IDH1	IDH2	IGF1R
IKBKE	IKZF1	INPP4B	IRF2	IRF4	IRS2	JAK1	JAK2	JAK3
JUN	KDM5A	KDM5C	KDM6A	KDR	KEAP1	KEL	KIT	KLHL6
KMT2A(MLL)	KMT2D(MLL2)	KRAS	LTK	LYN	MAF	MAP2K1(MEK1)	MAP2K2(MEK2)	MAP2K4
MAP3K1	MAP3K13	MAPK1	MCL1	MDM2	MDM4	MED12	MEF2B	MEN1
MERTK	MET	MITF	MKNK1	MLH1	MPL	MRE11A	MSH2	MSH3
MSH6	MST1R	MTAP	MTOR	MUTYH	MYC	MYCL(MYCL1)	MYCN	MYD88
NBN	NF1	NF2	NFE2L2	NFKBIA	NKX2-1	NOTCH1	NOTCH2	NOTCH3
NPM1	NRAS	NT5C2	NTRK1	NTRK2	NTRK3	P2RY8	PALB2	PARK2
PARP1	PARP2	PARP3	PAX5	PBRM1	PDCD1(PD-1)	PDCD1LG2(PD-L2)	PDGFRA	PDGFRB
PDK1	PIK3C2B	PIK3C2G	PIK3CA	PIK3CB	PIK3R1	PIM1	PMS2	POLD1
POLE	PPARG	PPP2R1A	PPP2R2A	PRDM1	PRKAR1A	PRKCI	PTCH1	PTEN
PTPN11	PTPRO	QKI	RAC1	RAD21	RAD51	RAD51B	RAD51C	RAD51D
RAD52	RAD54L	RAF1	RARA	RB1	RBM10	REL	RET	RICTOR
RNF43	ROS1	RPTOR	SDHA	SDHB	SDHC	SDHD	SETD2	SF3B1
SGK1	SMAD2	SMAD4	SMARCA4	SMARCB1	SMO	SNCAIP	SOC3	SOX2
SOX9	SPEN	SPOP	SRC	STAG2	STAT3	STK11	SUFU	SYK
TBX3	TEK	TET2	TGFB2	TIPARP	TNFAIP3	TNFRSF14	TP53	TSC1
TSC2	TYRO3	U2AF1	VEGFA	VHL	WHSC1(MMSET)	WHSC1L1	WT1	XPO1
XRCC2	ZNF217	ZNF703						

Appendix 2 : List of genes selected in the Avenio CGP panel for the detection of gene rearrangements, substitution in a promoter region, and non-coding RNA gene.

ALK	BCL2	BCR	BRAF	BRCA1	BRCA2	CD74	EGFR	ETV4
ETV5	ETV6	EWSR1	EZR	FGFR1	FGFR2	FGFR3	KIT	KMT2A(MLL)
MSH2	MYB	MYC	NOTCH2	NTRK1	NTRK2	NUTM1	PDGFRA	RAF1
RARA	RET	ROS1	RSPO2	SDC4	SLC34A2	TERC*	TERT (PROMOTER ONLY)**	
TMPRSS2								

Appendix 3 : Genes included in the routine DNA (STS) and RNA (STSplus) NGS panel

Panels de gènes analysés par séquençage haut-débit
Séquençage ADN - kit « Solid Tumor Solution » (STS_v1, 42 gènes - 21404 paires de bases, Sophia Genetics®) <u>Liste de gènes (exons) séquencés :</u> AKT1 (3), ALK (21-25), BRAF (11,15), CDK4 (2), CDKN2A (1*,2,3), CTNNB1 (3), DDR2 (17), DICER1 (24,25), EGFR (18-21), ERBB2 (8,17,20), ERBB4 (10,12), FBXW7 (8-12), FGFR1 (12,14), FGFR2 (7,12,14), FGFR3 (7,9,14,16), FOXL2 (1*),GNA11 (4,5), GNAQ (4,5), GNAS (8), H3F3A(2*), H3F3B (2*), HIST1H3B (1),HRAS (2-4), IDH1 (4), IDH2 (4), KIT (8-11,13,17,18), KRAS (2-4), MAP2K1 (2,3),MET (2,14-20) large deletion, MYOD1 (1), NRAS (2-4), PDGFRA (12,14,18), PIK3CA (2*,3,6*,8,10,21),PTPN11 (3), RAC1 (3), RAF1 (7,10,12,13*,14*,15*), RET (11,13,15,16), ROS1 (38*,41*),SF3B1 (15-17), SMAD4 (8-12), TERT (promoteur*(mutations C228T et C250T),1*,8*,9*,13*), TP53 (2-11) *seulement les « hotspots » mutationnels <u>Liste des gènes avec évaluation du nombre de copies:</u> ALK, BRAF, CDK4, CDKN2A, EGFR, ERBB2, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, HRAS, KIT, KRAS, MET, MYOD1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, RAF1, ROS1, RET, SF3B1, TERT and TP53
Séquençage ARN – kit « Solid Tumor Plus Solution » (Version PM_T1_T2_T3_5.1.59_r3en, Sophia Genetics®) <u>Liste des cibles séquencées :</u> 137 transcrits de fusions de gènes pouvant impliquer les gènes <i>ALK, BRAF, EGFRvIII, FGFR1, FGFR2, FGFR3, NTRK1, NTRK3, PPARG, RET, ROS1</i>, ainsi que les sauts d'exon 14 de <i>MET</i> et les variants III de <i>EGFR</i>

Appendix 4 : Concordance between routine DNA NGS panel and the Avenio CGP panel

Reference	Molecular alterations	CGP	Routine	TMB (mut/Mb)
1	<i>MET</i> c.2942-19_2942-4del	1	1	1,26
	<i>TP53</i> p.(Val173Leu)	1	1	
	<i>TP53</i> p.(Arg248Gln)	1	1	
2	<i>SMARCA4</i> p.(Gln418*)	1	0	22,7
	<i>TP53</i> p.(Gly154Val)	1	1	
	<i>STK11</i> p.(Asp237His)	1	0	
3	<i>KRAS</i> p.(Gly12Val)	1	1	8,83
4	<i>KRAS</i> p.(Gly12Phe)	1	1	8,83
	<i>CDKN2A</i> p.(Ala60Val)	1	1	
	<i>U2AF1</i> p.(Ser34Phe)	1	0	
5	<i>KRAS</i> p.(Gly12Val)	1	1	7,75
	<i>TP53</i> p.(Leu257Arg)	1	1	
6	<i>KRAS</i> p.(Gly12Val)	1	1	15,3
	<i>KRAS</i> p.(Gly13Cys)	1	1	
7	<i>KRAS</i> p.(Gly12Cys)	1	1	3,78
	<i>TP53</i> p.(Arg273Leu)	1	1	
	<i>NF2</i> c.115-1G>C	1	0	
8	<i>TP53</i> p.(Cys238Ser)	1	1	2.52
9	<i>BRAF</i> p.(Asp594Asn)	1	1	15,3
10	<i>KRAS</i> p.(Gly12Cys)	1	1	10,09
	<i>TP53</i> p.(Ser215Ile)	1	1	
	<i>CDKN2A</i> p.(His83Tyr)	1	1	
	<i>KEAP1</i> p.(Arg71Pro)	1	0	
11	<i>BRAF</i> p.(Gly469Ala)	1	1	5,04
	<i>BRAF</i> p.(Ala246Pro)	1	0	
	<i>TP53</i> p.(Thr123Leufs*35)	1	1	
	<i>CDKN2A</i> p.(His83Asp)	1	1	
12	<i>KRAS</i> p.(Gly12Cys)	1	1	11,35
	<i>TP53</i> p.(Gly154Val)	1	1	
	<i>TERT</i> c.-124C>T	1	1	
13	<i>TP53</i> p.(Arg249Ser)	1	1	12.61
	<i>CDKN2A</i> p.(Glu33Glyfs*11)	1	1	
	<i>NF2</i> p.(Arg341T*)	1	0	
14	<i>KRAS</i> p.(Gly12Val)	1	1	13,87
	<i>TP53</i> p.(Gly226Arg)	1	1	
	<i>TP53</i> p.(Glu271Gln)	1	1	
15	<i>KRAS</i> p.(Gly12Cys)	1	1	12.61
	<i>TP53</i> p.(Glu298*)	1	1	
16	<i>ALK</i> p.(Arg1275Gln)	1	1	7,57
	<i>TP53</i> p.(Lys139Leufs*28)	1	1	
	<i>MET</i> p.(Asp1028His)	1	1	

17	<i>TP53</i> p.(Gly154Val)	1	1	17,65
	<i>KDM6A</i> p.(Arg1054fs*29)	1	0	
18	<i>TP53</i> p.(Ser90Profs*33)	1	1	10,09
	<i>MET</i> p.(Asp1028His)	1	1	
	<i>PTPN11</i> p.(Gly503Arg)	1	0	
	<i>ASXL1</i> p.(Pro808fs*10)	1	0	
	<i>TET2</i> p.(Arg1465Ter)	1	0	
19	<i>TP53</i> p.(Val172Asp)	1	1	6,3
20	<i>KRAS</i> p.(Gly12Ser)	1	1	30,26
	<i>TP53</i> p.(Cys277Phe)	1	1	
	<i>POLE</i> p.(Glt641*)	1	0	
21	<i>TP53</i> p.(Leu35Phefs*8)	1	1	18,91
	<i>CDKN2A</i> p.(Ala21Profs*5)	1	1	
22	<i>TP53</i> p.(Gly12Cys)	1	1	12,61
	<i>KRAS</i> p.(Ala138Val)	1	1	
23	<i>KRAS</i> p.(Gly12Asp)	1	1	6,3
	<i>TP53</i> p.(Gly154Alafs*16)	1	1	
	<i>KEAP1</i> p.(Gly332Val)	1	0	
24	<i>BRAF</i> p.(Gly469Val)	1	1	7,57
	<i>TP53</i> p.(Tyr163Cys)	1	1	
	<i>ARID1A</i> p.(Ala339fs*24)	1	0	
25	<i>KRAS</i> p.(Gly12Cys)	1	1	20,7
	<i>CDKN2A</i> p.(Pro81Alafs*37)	1	1	
	<i>TP53</i> p.(Glu271Lys)	1	1	
26	<i>KRAS</i> p.(Gly12Cys)	1	1	11,35
	<i>TP53</i> p.(Ser241Phe)	1	1	
	<i>RBM10</i> p.(Arg230*)	1	0	

TITRE DE LA THESE : PROFILAGE GENOMIQUE EXTENSIF. A PROPOS D'UNE SERIE PRELIMINAIRES DE 26 CARCINOMES BRONCHO-PULMONAIRES NON A PETITES CELLULES NON-EPIDERMOÏDES PD-L1 $\geq$ 50%

AUTEUR : BASILE CHALOT

RESUME :

Contexte : Les panels ciblés ADN et ARN utilisés en routine pour la caractérisation moléculaire des carcinomes broncho-pulmonaires métastatiques non-épidermoïdes (CBNPC) ne permettent d'identifier que les mutations et les réarrangements d'intérêt. Le profilage génomique extensif donne des informations plus larges comme la charge mutationnelle (TMB) qui pourrait être utile dans la prédiction de la réponse à l'immunothérapie (IT).

Matériel et Méthodes : Dans cette étude rétrospective, nous avons inclus 26 CBPNC PD-L1 $\geq$ 50% diagnostiqué dans le service de pathologie du CHU de Dijon. Les résultats d'un large panel de type CGP ont été comparés à ceux des panels ADN et ARN utilisés en routine. Puis, la charge mutationnelle (TMB) et d'autres biomarqueurs potentiels (TIL CD8+ et nodules lymphoïdes) ont été corrélés à la réponse à l'IT.

Résultats : Toutes les mutations détectées en routine ont été identifiées par le panel CGP. Dans 12 cas, une ou plusieurs mutations supplémentaires sans incidence théranostique étaient également présentes. Parmi nos 26 cas, 15 avaient une TMB $\geq$ 10 mut/Mb. Parmi les 15 patients traités par immunothérapie, tous les cas avec TMB élevée ont répondu.

Conclusion : Cette étude confirme que le panel CGP donne des résultats comparables aux panels ADN et ARN de routine même pour des biopsies de petite taille. Tous les patients avec TMB $\geq$ 10 mut/Mb ont répondu à l'immunothérapie. Même si tous les répondeurs n'avaient pas une TMB élevée, la charge mutationnelle pourrait représenter un biomarqueur prédictif de réponse à l'immunothérapie utilisable en pratique clinique.

Mots-cles : CARCINOME BRONCHO-PULMONAIRES NON A PETITES CELLULES, BIOLOGIE MOLECULAIRE, CHARGE MUTATIONNELLE TUMORALE, IMMUNOTHERAPIE, BIOMARQUEUR