

ANNEE 2020

N°

**LE VOLUME SPLENIQUE COMME MARQUEUR PREDICTIF DE LA REPONSE AU FOLFIRINOX
DANS LE CANCER DU PANCREAS AVANCE**

**BASELINE SPLENIC VOLUME AS A SURROGATE MARKER OF FOLFIRINOX EFFICACY IN
ADVANCED PANCREATIC CARCINOMA**

THESE

Présentée

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

et soutenue publiquement le 17 février 2020

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par **Anne AARNINK**

Né(e) le 14/03/1991

A CHAUMONT (52)

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 encourt 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 2020

N°

**LE VOLUME SPLENIQUE COMME MARQUEUR PREDICTIF DE LA REPONSE AU FOLFIRINOX
DANS LE CANCER DU PANCREAS AVANCE**

**BASELINE SPLENIC VOLUME AS A SURROGATE MARKER OF FOLFIRINOX EFFICACY IN
ADVANCED PANCREATIC CARCINOMA**

THESE
Présentée

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

et soutenue publiquement le 17 février 2020

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par **Anne AARNINK**

Né(e) le 14/03/1991

A CHAUMONT (52)

Année Universitaire 2019-2020
au 1^{er} **Novembre 2019**

Doyen :
Assesseurs :

M. Marc MAYNADIÉ
M. Pablo ORTEGA-DEBALLON
Mme Laurence DUVILLARD

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

			Discipline
M.	Sylvain	AUDIA	Médecine interne
M.	Marc	BARDOU	Pharmacologie clinique
M.	Jean-Noël	BASTIE	Hématologie - transfusion
M.	Emmanuel	BAULOT	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M.	Yannick	BEJOT	Neurologie
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.	Alexis	BOZORG-GRAYELI	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	Alain	BRON	Ophtalmologie
M.	Laurent	BRONDEL	Physiologie
Mme	Mary	CALLANAN	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
M.	Gilles	CREHANGE	Oncologie-radiothérapie
Mme	Catherine	CREUZOT-GARCHER	Ophtalmologie
M.	Frédéric	DALLE	Parasitologie et mycologie
M.	Alexis	DE ROUGEMONT	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
M.	Hervé	DEVILLIERS	Médecine interne
M.	Serge	DOUVIER	Gynécologie-obstétrique
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
M.	François	GHIRINGHELLI	Cancérologie
M.	Pierre Grégoire	GUINOT	Anesthésiologie – réanimation chirurgicale
M.	Frédéric	HUET	Pédiatrie
M.	Pierre	JOUANNY	Gériatrie
M.	Sylvain	LADOIRE	Histologie
M.	Gabriel	LAURENT	Cardiologie
M.	Côme	LEPAGE	Hépatogastroentérologie
M.	Romaric	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
M.	Klaus Luc	MOURIER	Neurochirurgie
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	RAY	Médecine d'urgence
M.	Patrick	RAT	Chirurgie générale
M.	Jean-Michel	REBIBOU	Néphrologie
M.	Frédéric	RICOLFI	Radiologie et imagerie médicale
M.	Paul	SAGOT	Gynécologie-obstétrique
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.	Pierre	VABRES	Dermato-vénéréologie
M.	Bruno	VERGÈS	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
M.	Narcisse	ZWETYENGA	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

PROFESSEURS EN SURNOMBRE

M.	Alain	BERNARD (surnombre jusqu'au 31/08/2021)	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
M.	Bernard	BONIN (Surnombre jusqu'au 31/08/2020)	Psychiatrie d'adultes
M.	Jean-Marie	CASILLAS-GIL (Surnombre jusqu'au 31/08/2020)	Médecine physique et réadaptation
M.	Pascal	CHAVANET (Surnombre jusqu'au 31/08/2021)	Maladies infectieuses

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES
PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES MEDICALES**

			Discipline Universitaire
M.	Jean-Louis	ALBERINI	Biophysiques et médecine nucléaire
Mme	Lucie	AMOUREUX BOYER	Bactériologie
Mme	Shaliha	BECHOUA	Biologie et médecine du développement
M.	Mathieu	BLOT	Maladies infectieuses
M.	Benjamin	BOUILLET	Endocrinologie
Mme	Marie-Claude	BRINDISI	Nutrition
Mme	Marie-Lorraine	CHRETIEN	Hématologie
Mme	Vanessa	COTTET	Nutrition
M.	Damien	DENIMAL	Biochimie et biologie moléculaire
Mme	Ségolène	GAMBERT-NICOT	Biochimie et biologie moléculaire
Mme	Marjolaine	GEORGES	Pneumologie
Mme	Françoise	GOIRAND	Pharmacologie fondamentale
M.	Charles	GUENANCIA	Physiologie
Mme	Agnès	JACQUIN	Physiologie
M.	Alain	LALANDE	Biophysique et médecine nucléaire
M.	Louis	LEGRAND	Biostatistiques, informatique médicale
Mme	Stéphanie	LEMAIRE-EWING	Biochimie et biologie moléculaire
M.	Pierre	MARTZ	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M.	Alain	PUTOT	Gériatrie
M.	Paul-Mickaël	WALKER	Biophysique et médecine nucléaire

PROFESSEURS EMERITES

M.	Laurent	BEDENNE	(01/09/2017 au 31/08/2020)
M.	Jean-François	BESANCENOT	(01/09/2017 au 31/08/2020)
M.	François	BRUNOTTE	(01/09/2017 au 31/08/2020)
M.	Philippe	CAMUS	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	Jean	CUISENIER	(01/09/2018 au 31/08/2021)
M.	Jean-Pierre	DIDIER	(01/11/2018 au 31/10/2021)
Mme	Monique	DUMAS-MARION	(01/09/2018 au 31/08/2021)
M.	Claude	GIRARD	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	Maurice	GIROUD	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	Patrick	HILLON	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	François	MARTIN	(01/09/2018 au 31/08/2021)
M.	Henri-Jacques	SMOLIK	(01/09/2019 au 31/08/2022)
M.	Pierre	TROUILLOUD	(01/09/2017 au 31/08/2020)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

M.	Jean-Noël	BEIS	Médecine Générale
----	-----------	-------------	-------------------

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

Mme	Katia	MAZALOVIC	Médecine Générale
-----	-------	------------------	-------------------

PROFESSEURS ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

M.	Didier	CANNET	Médecine Générale
M.	François	MORLON	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES DE MEDECINE GENERALE

M.	Clément	CHARRA	Médecine Générale
Mme	Anne	COMBERNOUX -WALDNER	Médecine Générale
M.	Benoit	DAUTRICHE	Médecine Générale
M.	Alexandre	DELESVAUX	Médecine Générale
M.	Rémi	DURAND	Médecine Générale
M.	Arnaud	GOUGET	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme	Lucie	BERNARD	Anglais
M.	Didier	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

PROFESSEURS CERTIFIES

Mme	Anaïs	CARNET	Anglais
M.	Philippe	DE LA GRANGE	Anglais
Mme	Virginie	ROUXEL	Anglais (Pharmacie)

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

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES PRATICIENS HOSPITALIERS DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

M.	Philippe	FAGNONI	Pharmacie clinique
M.	Frédéric	LIRUSSI	Toxicologie
M.	Marc	SAUTOUR	Botanique et cryptogamie
M.	Antonin	SCHMITT	Pharmacologie

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 François GHIRINGHELLI

Membres : Monsieur le Professeur Côme LEPAGE
Monsieur le Professeur Sylvain LADOIRE
Madame le Docteur Leila BENGRINE-LEFEVRE
Monsieur le Docteur Adrien MELIS

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."

DEDICACES ET REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur François Ghiringhelli,

Merci pour la confiance que tu m'as accordée durant ce travail, pour le cadre que tu y as apporté et pour ta disponibilité. Merci d'avoir accepté de présider ce jury. Reçois à travers ce travail toute l'expression de ma gratitude.

À Monsieur le Professeur Côme Lepage,

Merci de me faire l'honneur de prendre place au sein de ce jury. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

À Monsieur le Professeur Sylvain Ladoire,

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger au sein de ce jury. Merci également pour tous les enseignements que vous m'avez apportés lors de mes semestres passés au CGFL. Votre implication pédagogique m'a été d'un grand bénéfice. Veuillez croire en mon profond respect.

À Madame le Docteur Leila Bengrine,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail. J'admire tes qualités humaines, ta rigueur médicale et ta bienveillance, et j'espère réussir à m'en inspirer suffisamment lors de ma pratique future. Sois assurée de mon profond respect.

À Monsieur le Docteur Adrien Mélis,

Merci d'avoir accepté ce nouveau défi de juger un travail de thèse, la mienne. C'est avec plaisir que j'ai travaillé quelques mois au sein de votre équipe Châlonnaise, et que je viendrai d'ici peu vous rejoindre pour plus longtemps. Merci pour la confiance que tu m'accordes, pour ta disponibilité et pour ta sincérité. Tes qualités humaines et ton énergie inépuisable sont des exemples que j'essaierai de suivre au mieux. Sois assuré de mon profond respect.

À toutes les équipes médicales et paramédicales que j'ai côtoyées, le service d'onco-hématologie au CH de Chalon, le service d'oncologie médicale au CGFL, le service d'HSCP au CHU, le service de radiothérapie au CGFL, le service de radiodiagnostic au CGFL, le service d'oncologie médicale à l'HPSM à Chalon, la PTBC au CGFL. Merci pour l'enseignement médical et humain dont j'ai bénéficié à vos côtés.

À ma famille,

À mes parents,

C'est sans aucun doute grâce à vous que j'en suis là. Merci de m'avoir transmis vos solides valeurs du travail et de l'effort qui auront été le pilier de toutes ces années d'études, et de m'avoir toujours accordé votre écoute, votre confiance et votre soutien dans un amour bienveillant. Ils sont moteurs au quotidien, sur tous les chemins de ma vie.

À mes frères et sœurs,

Pierre et Marie, votre conviction et votre persévérance dans tous vos projets sont des exemples qui m'inspirent. Merci aussi pour votre présence dans tous ces moments précieux que nous partageons en famille.

À mes amis,

Aurore, merci pour ta présence aujourd'hui, reflet de celle qui dure depuis plus de dix ans. Quelle chance j'ai eu de t'avoir comme fidèle complice et confidente durant toutes ces années où l'on se construit ! Il est évident que mon parcours n'aurait pas été le même sans toi. Je vous souhaite de continuer sur ces chemins qui se suivent et s'entrecroisent encore longtemps, pour y semer tout ce qu'il nous reste à partager.

Baptiste, merci pour ton attention à tout moment et pour ta sincérité qui font la belle personne que tu es. Vous formez avec Paul une très belle famille.

Zoé, merci pour cette belle rencontre de l'internat ! Fidèle co-interne, co-joggeuse, co-maman, un jour co-llègue, autant de liens qui nous mèneront à passer encore du temps ensemble, et je m'en réjouis. Courèche, merci pour tes blagues (et leurs explications) qui apportent un peu de légèreté. Sacha, merci d'être un véritable petit copain pour Salomé.

Aux grommiens, Carole, Quentin et Maël, Mylène, Céline et Mathile, Marie et Manon, Marie-Lore et Julien, Alexis et Aurélia, merci pour tous ces bons moments partagés en « famille ». Et quelle famille, avec sa belle promesse d'agrandissement !

À mes co-internes, Sarah, Thomas C, Loïck, Manon, Soleine, Constance, Jean-David, Pierre-Antoine, Mathieu, Pierre-Marie, Rémi, Thomas R, Caroline, Maud, Simon, Angélique, Ségolène, Loïc. Merci d'avoir participé à passer des journées de travail plus plaisantes.

À mes amis haut-marnais, dijonnais *ou nantais*, Marie S, Morgane, Mahaut, Inès, Justine, Louis-Daniel, Bin, Gaelle, Mélo, Elise, Flavie, François, Hélène, Clarisse, Alexis B, Clémentine, Romain. Merci à chacun pour les rencontres, les moments partagés et les bouts de chemin parcourus ensemble.

À toi, Zac, merci de m'accompagner avec autant de courage. Ton amour inconditionnel et ta soif permanente de nouveaux projets me sont précieux. Puissent-ils nous porter encore longtemps ensemble à travers de belles aventures et la simplicité du quotidien.

À toi, Salomé, notre petite merveille. Quel bel apprentissage que celui de la maternité à tes côtés ! Par ton évolution au quotidien, tu me donnes l'exemple de la persévérance pour avancer, et pour continuer à apprendre.

À toi, qui te fais attendre, merci de m'avoir poussée à clôturer ce travail dans un délai qui me permette de passer mes quelques derniers mois d'internat l'esprit libre.

TABLE DES MATIERES

INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX	13
LISTE DES ABREVIATIONS	14
LE CANCER DU PANCREAS METASTATIQUE	16
I. EPIDEMIOLOGIE	16
II. CLASSIFICATION THERAPEUTIQUE	16
1. <i>TNM</i> :	16
2. Stades :	17
III. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES TUMEURS NON RESECABLES	18
1. Première ligne	18
2. Deuxième ligne	19
IV. LES ENJEUX ET PERSPECTIVES : INHIBITION DES VOIES DE SIGNALISATION	19
1. KRAS	19
2. Fusions NTRK	20
3. ALK	20
4. Fusions NRG1	20
5. Délétions BRAF	21
6. CDK4/6	21
V. LES ENJEUX ET PERSPECTIVES : AGIR SUR LE SYSTEME DE REPARATION DE L'ADN	21
1. Inhibiteurs de PARP	21
2. ATM	22
VI. LES ENJEUX ET PERSPECTIVES : L'IMMUNOTHERAPIE	23
1. Inhibiteurs de checkpoints immunitaires (ICI)	23
2. Transfert adoptif de cellules	24
3. Thérapie vaccinale	24
4. CD40	25
VII. LES ENJEUX ET PERSPECTIVES : LES AUTRES STRATEGIES	25
1. Métabolisme cellulaire	25
2. Microenvironnement tumoral	26
VIII. RATIONNEL DE L'ETUDE	26
PUBLICATION	28

ABSTRACT:	29
ARTICLE:	30
I. INTRODUCTION:	30
II. MATERIALS AND METHODS:	31
1. <i>Patients</i>	31
2. <i>Statistical Analysis</i>	32
III. RESULTS:	33
1. <i>Population-Based Prospective Cohort</i>	33
2. <i>Spleen size and chemotherapy regimen</i>	35
3. <i>Association between splenic volume and patients' prognosis.</i>	36
4. <i>Generation of a predictive model associated with better efficacy of FOLFIRINOX.</i>	40
IV. DISCUSSION	41
V. REFERENCES	44
CONCLUSIONS	47
BILBIOGRAPHIE DE L'AVANT-PROPOS	49

INDEX DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Flow chart. A Training cohort. B Validation and control cohorts.	33
Figure 2 : Evolution of the splenic volume	35
Figure 3 : Prognostic role of the pre-treatment splenic volume in the training cohort	37
Figure 4 : Prognostic role of the pre-treatment splenic volume in the validation and gemcitabine cohorts.	39
Figure 5 : Prognostic role of the composite biomarker on progression-free survival	41
Figure 6 : Prognostic value of the composite biomarker for overall survival	41
Table 1 : Comparison of clinical characteristics of training, validation and control cohorts.	35
Table 2 : Results of univariate Cox analysis on the training cohort	36
Table 3 : Results of univariate Cox analysis on the validation cohort	38
Table 4 : Results of univariate Cox analysis on the control cohort.	40
Table 5 : Summary of the CoxBoost model estimated on the training set.	40

LISTE DES ABREVIATIONS

5FU: 5-fluoro-uracile
ACE: Antigène carcino-embryonnaire
ADN : Acide désoxyribonucléique
AJCC : American Joint Committee on Cancer
ALK: Anaplastic lymphoma kinase
aPDAC: advanced pancreatic ductal adenocarcinoma
ARN: Acide ribonucléique
ATM: Ataxia telangiectasia mutated
BRAF: v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B
BRCA 1 et 2: Breast Cancer 1 et 2
BTK : Bruton tyrosine kinase
CAR-T : Chimeric antigen receptor – T cells
CT-scan : Computerized tomography-scan
Ca19-9 : Cancer antigen 19-9
CD 8 / 40 / 133 : Cluster of differentiation 8 / 40 / 133
CDKN2A: Cyclin dependent kinase inhibitor 2A
CDK4/6: Cyclin dependent kinases 4/6
CEA: Carcinoembryonic antigen
CHEK2: Checkpoint kinase 2
CTLA-4: Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
CTGF: Connective tissue growth factor
EGFR: Epidermal growth factor receptor
ERK: Extracellular signal-regulated kinase
FAK: Focal adhesion kinase
FDA: Food and drug administration
GDP: Guanosine diphosphate
GM-CSF: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GTP: Guanosine triphosphate
HER2: Human epidermal growth factor receptor 2
ICI: Inhibiteur de checkpoint immunitaire
KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene
MAPK: Mitogen-activated protein kinases
MDSCs: Myeloid-derived suppressor cells
MEK: MAPK/ERK Kinase

MMR: Mismatch repair
mTOR: mechanistic target of rapamycin
MUC-1: Mucin-1
NHEJ: Nonhomologous end joining
NTRK: Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase
OS: overall survival
PALB2: Partner and localizer of BRCA2
PARP: Poly (adenosine diphosphate)-ribose polymerase
PDAC: Pancreatic ductal adenocarcinoma
PD-1: Programmed cell death-1
PD-L1: Programmed cell death-ligand 1
PDPK1: Phosphoinositide dependent protein kinase 1
PEGPH20: Pegylated recombinant human hyaluronidase
PFS: progression free survival
PI3K: Phosphoinositide 3-kinase
PS: Performance status
RAF: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
RECIST: Response evaluation criteria in solid tumors
RH: Recombinaison homologue
SSA: Single-strand annealing
TRK: Tyrosine Receptor Kinase

LE CANCER DU PANCREAS METASTATIQUE

I. Epidémiologie

Le cancer du pancréas est en 2019, la troisième cause de décès par cancer aux Etats-unis, derrière le cancer du poumon et le cancer du côlon (1). On estime qu'en 2030, il deviendra la seconde cause de mortalité par cancer, derrière le cancer du poumon(2). Son incidence en France a doublé chez les hommes et triplé chez les femmes entre 1982 et 2012 (3). Malgré les efforts de la recherche lors de ces dernières décennies, la survie des patients n'a que très peu évolué, et stagne aux alentours de 7 à 8% de survie globale à 5 ans, tous stades confondus, ce qui en fait le cancer digestif dont le pronostic est le plus défavorable (4).

Les principaux facteurs de risque identifiés actuellement sont le tabac, l'obésité, le diabète et les pancréatites chroniques. Par ailleurs, 7 à 10% s'inscrivent dans des formes familiales (5).

II. Classification thérapeutique

1. TNM :

La prise en charge thérapeutique dépend de l'étendue de la maladie, qui peut être évaluée par la classification TNM (AJCC 2017, 8ème version) ci-dessous.

Catégorie T	Taille de la tumeur, mesurée dans sa plus grande dimension	Modifications par rapport à la 7 ^{ème} classification*
T1	Tumeur ≤ 2 cm T1a Tumeur ≤ 0,5 cm T1b Tumeur > 0,5 cm et < 1 cm T1c Tumeur > 1 cm et ≤ 2 cm	
T2	Tumeur > 2 et ≤ 4 cm	Basée sur la taille et non pas sur l'invasion extra-pancréatique (avantage : plus objective, meilleure corrélation avec la survie)
T3	Tumeur > 4 cm	
T4	Tumeur envahissant l'axe cœliaque l'artère mésentérique supérieure et/ou à l'artère hépatique commune	Basée sur l'envahissement des artères et non pas la notion de résecabilité

Catégorie N	Adénopathies régionales (subdivision dans la nouvelle classification)	
N0	Pas de métastase ganglionnaire régionale	
<i>N1</i>	<i>1 à 3 ganglions régionaux métastatiques</i>	<i>Distinction N1/N2.</i>
<i>N2</i>	<i>≥ 4 ganglions régionaux métastatiques</i>	
Catégorie M	Métastases à distance (pas de changement)	
M0	Pas de métastase à distance	
M1	Présence de métastase(s) à distance	

**En italique : les modifications par rapport à l'édition précédente.*

2. Stades :

Stade IA	T1	N0	M0
Stade IB	T2	N0	M0
Stade IIA	T3	N0	M0
Stade IIB	T1-T3	N1	M0
Stade III	Tout T T4	N2 Tout N	M0 M0
Stage IV	Tout T	Tout N	M1

En pratique, la classification des tumeurs en fonction de leur caractère résécable, borderline, localement avancé ou métastatique est plus utile que la classification TNM pour la décision thérapeutique, et est basée sur le stade d'envahissement vasculaire des vaisseaux principaux (artère mésentérique supérieure, artère hépatique commune, veine mésentérique supérieure, veine porte et tronc coélique).

Après une évaluation rigoureuse, seuls 15 à 20% des patients sont candidats à une résection chirurgicale d'emblée à visée curative, avec pour objectif une résection histologique complète.

III. Prise en charge thérapeutique des tumeurs non résecables

1. Première ligne

Plus de 80% des patients présentent une maladie non résecable, localement avancée ou métastatique d'emblée, et ne pourront pas prétendre à un traitement chirurgical (6). Le traitement de référence consiste alors en une chimiothérapie.

Pendant longtemps, l'adénocarcinome pancréatique non opérable était traité par une monochimiothérapie, d'abord par 5-Fluoro-uracile, puis à la fin des années 1990, par Gemcitabine qui avait fait la preuve d'un bénéfice en survie en comparaison au 5-Fluoro-uracile (7).

Il a fallu attendre 2011 pour qu'une polychimiothérapie trouve sa place dans la prise en charge en première ligne des cancers pancréatiques métastatiques, avec l'étude de phase III ACCORD-11 qui a évalué l'efficacité et la tolérance d'un protocole de FOLFIRINOX (associant Oxaliplatine à 85mg/m², irinotécan à 180mg/m², leucovorin à 400mg/m² et 5-fluorouracile avec un bolus de 400mg/m² puis une perfusion continue sur 46h de 2400mg/m²) administré toutes les deux semaines, en comparaison à la Gemcitabine à une dose de 1000mg/m² administrée de façon hebdomadaire, trois semaines sur quatre. Le FOLFIRINOX présentait un bénéfice en survie sans progression et en survie globale (11.1 mois contre 6.8 mois), au prix d'une toxicité accrue, avec au premier plan des neutropénies, des diarrhées et des neuropathies sensitives. Ce schéma est actuellement adopté comme le traitement de référence dans les pays européens (8). Par ailleurs les études rétrospectives ultérieures semblent montrer un meilleur profil de tolérance et une efficacité maintenue du FOLFIRINOX modifié, avec suppression du bolus de 5FU, et diminution de l'irinotécan à 150mg/m² (9). En pratique, on décide également d'une stratégie de maintenance par FOLFIRI (suppression de l'oxaliplatine) ou par LV5FU2 (suppression de l'oxaliplatine et de l'irinotécan) après 3 à 6 mois de traitement d'induction par FOLFIRINOX (10).

En 2013, les résultats de l'étude de phase III MPACT ont montré un bénéfice en survie globale de l'association gemcitabine et nab-paclitaxel en comparaison avec la gemcitabine seule (8.5 mois versus 6.7 mois, p<0.001). Ce schéma est devenu la référence de traitement en première ligne aux Etats-Unis (11).

2. Deuxième ligne

Seule la moitié des patients traités en première ligne présente un état général préservé (PS 0-1) leur permettant de recevoir une seconde ligne de traitement.

Les recommandations en seconde ligne sont peu précises depuis les modifications en première ligne. En pratique, après une ligne de traitement à base de Gemcitabine, une association de 5-FU avec un sel de platine, l'irinotécan ou l'irinotécan nanoliposomal est le traitement de référence (12-14). Après une première ligne de FOLFIRINOX, les données sont peu nombreuses et limitées à des études rétrospectives, mais la pratique laisse une place logique à la Gemcitabine (15).

IV. Les enjeux et perspectives : inhibition des voies de signalisation

Devant ces modestes résultats en termes de survie et le pronostic péjoratif des adénocarcinomes pancréatiques, la recherche fournit actuellement de nombreux efforts, qui restent malheureusement peu fructueux. L'apport de la biologie moléculaire et des séquençages d'ADN et d'ARN permet toutefois comme dans d'autres types de cancer d'améliorer la connaissance des tumeurs pancréatiques et d'orienter la recherche clinique (16).

1. KRAS

Plus de 90% des adénocarcinomes pancréatiques présentent une mutation oncogénique de KRAS, impliqué dans la voie des MAP kinases, qui est l'une des voies de prolifération cellulaire des mieux connues (17). Devant cette très forte prévalence de la mutation, beaucoup d'études ont été conduites. Néanmoins, la protéine KRAS se montre malheureusement très difficile à cibler en raison de la forte affinité pour GTP et/ou GDP qui rend sa conformation peu propice à des liaisons à d'autres molécules. Deux inhibiteurs de KRAS récemment mis au point (ARS-1620 et AMG510) permettent de cibler la mutation KRAS^{G12C} qui n'est présente que dans 1% des tumeurs pancréatiques, alors que la mutation la plus fréquemment retrouvée dans les adénocarcinomes pancréatiques est la mutation KRAS^{G12D} (18-19). L'essai de phase I NCT03608631 actuellement en cours évalue les données pharmacologiques d'un inhibiteur de KRAS^{G12D}.

Devant ces difficultés à cibler directement KRAS, d'autres études s'intéressent au développement de molécules ciblant les voies de signalisation effectrices d'aval, incluant RAS-RAF-MEK-ERK et PI3K-PDPK1-AKT (20-23).

2. Fusions NTRK

La famille des TRK (*tropomyosin receptor kinase*) inclut 3 récepteurs transmembranaires (TRKA, TRKB, TRKC) qui ont un rôle dans le développement et la régulation du système nerveux. Lorsque les gènes codant pour les TRK (NTRK1, NTRK2, NTRK3) fusionnent avec différents ligands, ils peuvent avoir un rôle dans l'oncogénèse. Moins de 1% des patients atteints d'un adénocarcinome pancréatique présente des fusions du gène NTRK. L'entrectinib, évalué dans l'essai STRATRK-2 et le larotrectinib, évalué dans l'essai NAVIGATE sont deux inhibiteurs des fusions de NTRK ayant reçu l'autorisation de la FDA (*Food and Drug Administration*) pour le traitement des tumeurs de tous types présentant des fusions du gène NTRK (24, 25). La mise au point du LOXO-195, inhibiteur de NTRK de seconde génération, semble prometteuse dans certaines tumeurs ayant acquis une résistance aux inhibiteurs de première génération (26).

3. ALK

Les inhibiteurs d'ALK initialement étudiés dans les cancers bronchiques non à petites cellules pourraient également montrer un bénéfice clinique dans les adénocarcinomes pancréatiques dans lesquels les réarrangements ALK sont toutefois peu fréquemment retrouvés. Il existe actuellement un essai de phase I en cours, associant le ceritinib, un nouvel inhibiteur d'ALK, à de la chimiothérapie (gemcitabine + nab-paclitaxel ou cisplatine) dans les cancers pancréatiques avancés (NCT02227940).

4. Fusions NRG1

Le gène NRG1 code pour la neuroréguline-1, qui se lie aux récepteurs de tyrosine kinase erbB-EGFR3 et erbB-EGFR4. Les fusions du gène NRG1 ont un pouvoir oncogène dans les adénocarcinomes pancréatique KRAS sauvages, le plus souvent par sur-activation de la voie EGFR. Ainsi, ils constituent une nouvelle cible thérapeutique actuellement exploitée par la recherche (27).

5. Délétions BRAF

Des insertions ou délétions dans la région α -helix du domaine kinase de BRAF concernent 1% des adénocarcinomes pancréatiques et jusqu'à 10% si le statut KRAS est sauvage. Ces altérations confèrent un pouvoir oncogène à la cellule, par l'activation de la voie des MAP kinases, mais ne semblent pas sensibles aux inhibiteurs de BRAF de première génération qui ciblent spécifiquement la mutation BRAF^{V600E}. Cependant, la présence de ces altérations peut être un biomarqueur de réponse aux inhibiteurs des voies MAP kinases d'aval, notamment aux inhibiteurs de MEK ou ERK (28).

6. CDK4/6

CDKN2A (*Cyclin dependent kinase inhibitor 2A*) est un gène encodant une protéine inhibitrice de CDK4/6 (*Cyclin dependent kinases 4/6*), et sa perte de fonction a été mise en évidence dans 47% de cancers pancréatiques réséqués sur une cohorte de 150 patients, laissant envisager une prévalence importante dans les adénocarcinomes pancréatiques localement avancés ou métastatiques. Le plabociclib (inhibiteur de CDK4/6 déjà autorisé dans les carcinomes mammaires hormono-dépendants) a été étudié à un stade préclinique et semble montrer, seul ou en association à la gemcitabine, un bénéfice sur le ralentissement de la croissance cellulaire, l'apoptose et l'extension métastatique (29). Deux essais de phase I sont actuellement en cours pour une évaluation clinique, en association avec un inhibiteur de mTOR ou le nab-paclitaxel (NCT03065062 et NCT02501902).

V. Les enjeux et perspectives : agir sur le système de réparation de l'ADN

1. Inhibiteurs de PARP

Les Poly (ADP-ribose) Polymérase (PARP) sont des enzymes ayant un rôle crucial dans la réparation des cassures simple brin de l'ADN. Lorsque ces cassures simple brin ne sont pas réparées, elles s'accumulent et donnent lieu à des cassures double brin impliquant alors la mise en place de mécanismes de réparation plus complexes, notamment la recombinaison homologue (RH). Par ailleurs, les gènes BRCA 1 et 2 encodent des protéines impliquées dans la transcription, la régulation du cycle et la réparation de l'ADN par la RH. En cas de mutation

de BRCA1/2 entraînant une perte de fonction, l'activité de RH s'arrête au profit de voies alternatives de réparation telles que la *nonhomologous end joining* (NHEJ) et la *single-strand annealing* (SSA), qui provoquent d'avantage d'erreurs dans la réparation de l'ADN et donc une instabilité génétique qui en découle. Ainsi, l'action des inhibiteurs de PARP sur des cellules tumorales déficitaires pour BRCA va provoquer une importante augmentation des anomalies génétiques menant à l'apoptose de la cellule.

Les inhibiteurs de PARP ont des indications bien connues dans les cancers du sein et les cancers de l'ovaire BRCA mutés. Plus récemment, l'étude de phase III POLO a évalué l'efficacité de l'olaparib (comparé au placebo) dans les cancers du pancréas métastatiques présentant une mutation germinale de BRCA 1 ou 2, en maintenance après 4 mois de traitement à base de sels de platine. Les premiers résultats montrent un bénéfice en survie sans progression (médiane à 7.4 mois pour l'olaparib contre 3.8 mois pour le placebo, $p < 0.004$). Les données en survie globale sont encore immatures mais ne montrent pas pour le moment de différence significative entre les deux bras (18.9 mois vs 18.1 mois, $p = 0.68$). Devant ces données toutefois encourageantes, le traitement par olaparib en maintenance après 4 mois de chimiothérapie à base de platine chez les patients porteurs d'une mutation germinale de BRCA a obtenu l'autorisation d'utilisation de la FDA (30).

Par ailleurs, les recherches se poursuivent concernant l'efficacité des inhibiteurs de PARP chez les patients présentant des mutations d'autres gènes impliqués dans le système de réparation de l'ADN, telles que PALB2, ATM, CHEK2 et Rad51 (31, 32).

Des essais sont également développés, basés sur différents rationnels, pour l'évaluation d'associations d'inhibiteurs de PARP avec la chimiothérapie, avec des inhibiteurs de checkpoint immunitaires (anti-PD-L1 et anti-CTLA4)(NCT03404960), ou encore avec des inhibiteurs de MEK chez des patients sans mutations impliquées dans le système de réparation de l'ADN (NCT03637491). Les essais de phase I menés en association avec la chimiothérapie ont jusque-là montré des toxicités non acceptables (33).

2. ATM

Ataxia telangiectasia mutated (ATM) est une kinase impliquée dans le système de réparation de l'ADN. Sa perte de fonction est à l'origine d'une angiogenèse et de la progression du cycle cellulaire et semble être un facteur de mauvais pronostic. On observe une perte de fonction chez 9 à 18% des patients porteurs d'un adénocarcinome pancréatique. Des essais de phase

précoce sont actuellement en développement pour évaluer les effets d'inhibiteurs d'ATM (NCT02588105 et NCT03423628).

VI. Les enjeux et perspectives : l'immunothérapie

1. *Inhibiteurs de checkpoints immunitaires (ICI)*

Les études de phase précoce testant les anti-PD-L1 et anti-CTLA4 dans les cancers du pancréas métastatiques ont jusque-là été décevantes. Pour exemple, une étude de phase II a récemment évalué l'efficacité de l'association de durvalumab (anti-PD-L1) – tremelimumab (anti-CTLA4) à un traitement par durvalumab seul dans les adénocarcinomes pancréatiques métastatiques en deuxième ligne thérapeutique. Un taux de réponse minimum de 10% dans chacun des bras était requis en phase A pour démarrer la phase B de l'étude. Malheureusement le taux de réponse objectif était de 3,1% pour la combinaison d'immunothérapie et de 0% pour le durvalumab en monothérapie. L'essai a donc été arrêté à ce stade (34).

Les cancers du pancréas présentent globalement une faible charge mutationnelle pouvant expliquer en partie la faible sensibilité à l'immunothérapie. Cependant, les tumeurs avec déficit de la réparation des mésappariements (MMR), conduisant à une instabilité des microsatellites au sein des tumeurs, présentent quant à elles une charge mutationnelle élevée. Le pembrolizumab est le premier anti-PD1 à obtenir l'autorisation de la FDA pour traiter tous les types de tumeurs dès lors qu'elles présentent un déficit du MMR (35). Malheureusement, cela concerne moins de 1% des adénocarcinomes pancréatiques.

Les efforts sont actuellement plutôt dirigés sur l'évaluation de thérapies combinant des ICI à des agents immuno-modulateurs, dont les résultats ne sont pas encore disponibles. Le tableau ci-dessous rapporte les différentes études en cours évaluant des traitements par immunothérapie (16).

Study drug	Sponsor	Setting	Combination partner	Study phase	ClinicalTrials.gov identifier
Anti-PD-1 antibodies					
Nivolumab	Celgene	Any	Nab-paclitaxel ± gemcitabine	I	NCT02309177
	Bristol-Myers Squibb	Any	± Ipilimumab	I/II	NCT01928394
	Herlev Hospital	Second-line	Radiotherapy ± ipilimumab	II	NCT02866383
Pembrolizumab	Abramson Cancer Center of the University of Pennsylvania	Second-line	Radiotherapy	I	NCT02303990
	Merck Sharp & Dohme	Any	None	I	NCT02054806
	Translational Genomics Research Institute	Any	Paricalcitol	II	NCT03331562
	MD Anderson Cancer Center	Second-line	BL-8040 (CXCR4 antagonist)	II	NCT02907099
	Columbia University	Second-line	Azacitidine	II	NCT03264404
Anti-PD-L1 antibodies					
Atezolizumab	Genentech	Any	None	I	NCT01375842
	Hoffmann-La Roche	Any	None	II	NCT02458638
Avelumab	Pfizer	Second-line	Binimetinib (MEK inhibitor) and talazoparib	II	NCT03637491
Durvalumab	Centre Leon Berard	Second-line	Pexidartinib (CSF1R inhibitor)	I	NCT02777710
	Eli Lilly	Second-line	Galunisertib (TGFβ antagonist)	I	NCT02734160
	MedImmune	Any	None	I/II	NCT01693562

Nevala-Plagemann C et al. From state-of-the-art treatments to novel therapies for advanced-stage pancreatic cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019; Table 4.

2. Transfert adoptif de cellules

La thérapie par récepteurs antigéniques chimériques (CAR T cell therapy) est développée depuis plus de 20 ans dans certaines pathologies hématologiques malignes, et est actuellement en cours d'évaluation dans différentes tumeurs solides. Concernant les cancers pancréatiques, une étude de phase I a testé des cellules T ayant bénéficié d'un transfert de récepteur antigénique chimérique ciblant la mesothéline qui est une protéine fréquemment surexprimée dans les adénocarcinomes du pancréas (36). Différentes études sont également en cours, ciblant d'autres agents tels que l'antigène carcino-embryonnaire (ACE), HER2, MUC1, CD133 et des composants du micro-environnement tumoral.

3. Thérapie vaccinale

Le GVAX est un vaccin anti-tumoral, composé de cellules pancréatiques cancéreuses modifiées pour exprimer le facteur de croissance GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Ce facteur permet d'attirer les cellules dendritiques et d'activer les lymphocytes T. Par ailleurs, la réponse T spécifiquement médiée par la mesothéline a montré une corrélation avec la survie. CRS-207 est un vaccin fait de bactéries *Listeria monocytogenes* atténuées qui sécrètent de la mesothéline dans les cellules présentatrices d'antigènes pour stimuler la réponse immunitaire. Selon ce rationnel et devant des données

pré-cliniques encourageantes, une phase II randomisée a été conduite, comparant l'association cyclophosphamide - GVAX suivie de CRS-207 avec l'association cyclophosphamide - GVAX seule chez des patients porteurs d'un adénocarcinome pancréatique métastatique prétraités. Le cyclophosphamide était utilisé à faible dose pour inhiber les lymphocytes T régulateurs. Les résultats ont montré un bénéfice en survie globale pour le bras associant cyclophosphamide - GVAX suivi de CRS-207 par rapport au bras cyclophosphamide - GVAX seul (6,1 mois contre 3,9 mois, $p=0,02$), sans bénéfice associé en survie sans progression. Par ailleurs, l'amplification de la réponse immunitaire CD8 spécifique de la mésothéline était corrélée de façon significative à une meilleure survie globale (37).

En revanche, l'étude de phase IIb ECLIPSE n'a pas permis de montrer un bénéfice de la vaccination par GVAX, utilisé selon le même schéma étudié précédemment, par rapport à la chimiothérapie (38). Face aux données pré-cliniques supplémentaires, des associations de vaccins avec des ICI sembleraient plus favorables quant au taux de réponse (39).

4. CD40

CD40 est une protéine appartenant à la famille des récepteurs du TNF (*Tumor Necrosis Factor*), impliquée dans la réponse immunitaire en permettant notamment l'activation des lymphocytes T via les cellules présentatrices d'antigènes lorsqu'il est activé. Un agoniste de CD40 a été testé dans un essai de phase I, en association avec la chimiothérapie plus ou moins nivolumab (anti-PD-1), permettant des résultats encourageants avec un taux de réponse de 58% sur 24 patients évaluable (40).

VII. Les enjeux et perspectives : les autres stratégies

1. Métabolisme cellulaire

L'activation de KRAS peut altérer les voies de signalisation métabolique dans les cellules tumorales pancréatiques pour entretenir leur prolifération. C'est sur ce rationnel que la recherche s'intéresse également au développement de molécules ciblant le métabolisme cellulaire (41).

2. Microenvironnement tumoral

Il est aujourd'hui bien convenu que le microenvironnement tumoral joue lui aussi un rôle sur le développement tumoral, la réponse aux différentes thérapies, et le pronostic de la maladie. Dans les néoplasies pancréatiques, il existe différentes données parfois contradictoires concernant le rôle et le mode d'action du microenvironnement tumoral. Néanmoins, différentes thérapies ciblant ou modifiant le microenvironnement tumoral sont en cours d'investigation.

L'acide hyaluronique, surexprimé dans le stroma des patients atteints d'un adénocarcinome pancréatique, est responsable d'une réduction de perfusion des tissus par l'augmentation de la pression du fluide interstitiel menant à un collapsus vasculaire. Un taux élevé d'acide hyaluronique est ainsi corrélé à un mauvais pronostic. L'association de PEGPH20, une pegvorhyaluronidase- α , à la chimiothérapie par gemcitabine plus nab-paclitaxel a montré des résultats encourageants en phase précoce chez les patients présentant un taux élevé d'acide hyaluronique (42). L'essai de phase III comparant en première ligne l'association PEGPH20 - gemcitabine plus nab-paclitaxel à l'association gemcitabine plus nab-paclitaxel, avait pour objectif de confirmer ces résultats. Malheureusement, il a récemment été interrompu pour futilité. Malgré un meilleur taux de réponse dans le bras comprenant la PEGPH20, il n'y avait pas d'amélioration de la durée de réponse, de la survie sans progression et de la survie globale (43).

D'autres axes de recherche se concentrent également sur les inhibiteurs de *Focal Adhesion Kinase* (FAK) (44), supposée contribuer à un microenvironnement tumoral immunosuppresseur. D'autres protéines modifiant le microenvironnement tumoral telles que la *Bruton Tyrosine Kinase* (BTK) ou encore le *Connective Tissue Growth Factor* (CTGF) font également l'objet d'expérimentations avec notamment l'ibrutinib, inhibiteur de BTK ayant montré une activité anti-tumorale chez des modèles murins (45). Malheureusement, l'essai de phase III RESOLVE, évaluant l'efficacité de l'ajout de l'ibrutinib à la chimiothérapie par nab-paclitaxel et gemcitabine s'est montré négatif en survie sans progression et survie globale (46).

VIII. Rationnel de l'étude

A ce jour, le très agressif cancer du pancréas fait l'objet d'intenses efforts de recherche. Néanmoins, le pilier thérapeutique des tumeurs pancréatiques non résécables demeure la

chimiothérapie, sous forme de combinaisons souvent toxiques, et présentant des résultats très variables selon les patients.

Les nouvelles perspectives de traitement sont pour la plupart à l'état d'étude, parfois encore en phase précoce, et sembleraient ne concerner qu'une faible proportion des patients porteurs de néoplasie pancréatique. Rappelons toutefois que quelques avancées récentes permettent de traiter les patients porteurs d'une instabilité des microsatellites par le pembrolizumab, les patients porteurs d'une mutation germinale de BRCA par l'olaparib et les patients porteurs d'une fusion du gène NTRK par entrectinib ou larotrectinib, qui sont des molécules ayant reçu l'approbation de la FDA américaine.

Devant l'ensemble de ces données, nous nous sommes posés la question d'une meilleure sélection des patients qui auraient un bénéfice à la chimiothérapie, avec la recherche de marqueurs prédictifs d'une meilleure réponse au FOLFIRINOX.

Il a été mis en évidence chez des patients porteurs de cancer colorectal traités par FOLFOX que l'augmentation de taille de la rate était corrélée à la toxicité hépatique induite par l'oxaliplatine précédemment décrite par d'autres équipes (47-49). Par ailleurs, chez les modèles murins traités par FOLFIRINOX, la splénomégalie était associée à un plus mauvais pronostic du cancer (50), mais cette donnée n'a pas été contrôlée chez l'homme.

L'objet du travail de ma thèse était donc d'étudier si la taille de la rate et notamment la présence d'une splénomégalie pouvait être un facteur pronostique du cancer du pancréas et/ou un facteur prédictif de la réponse au FOLFIRINOX.

PUBLICATION

Baseline splenic volume as a surrogate marker of FOLFIRINOX efficacy in advanced pancreatic carcinoma.

Anne Aarnink, Corentin Richard, Caroline Truntzer, Julie Vincent, Leila Bengrine, Angélique Vienot, Christophe Borg, Francois Ghiringhelli

-Department of Medical Oncology (AA, JV, LB, FG) Dijon, Center Georges Francois Leclerc, Dijon, France;

-Platform of transfer in oncology (CR, CT, FG)

-Department of Medical Oncology (CB, AV), Besançon University Hospital, Besançon, France;

-INSERM, Unit 1231 (FG),

-University of Bourgogne–Franche-Comté, Besançon, France (FG, CB);

Correspondence to: Professor Francois Ghiringhelli MD, PhD, Department of Medical Oncology Center Georges Francois Leclerc, 1 rue du Professeur Marion, 21000 Dijon, France (e-mail: fgiringhelli@cgfl.fr).

ABSTRACT:

Background: The FOLFIRINOX regimen is the standard first-line treatment for advanced pancreatic adenocarcinoma (aPDAC). However, because of its potential toxicity, predictive biomarkers could help clinical decision-making.

Methods: A cohort of 97 aPDAC patients treated with first-line FOLFIRINOX was studied. The association between splenic volume and progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) was evaluated using univariate and multivariable Cox analyses. The external validation cohort was composed of 117 patients treated with Gemcitabine and 52 patients treated with FOLFIRINOX.

Results: In the training cohort, the splenic volume of 97 patients was measured at baseline and at the end of the therapy. Spleen size increased in 81% of patients, with at least a 50% increase in 27% of patients. Baseline splenomegaly predicted PFS (HR 1.812, 95% CI=[1.036 - 3.169]; $p=0.03$) and OS (HR 1.983, 95% CI=[1.085-3.624]; $p=0.02$) in the training cohort. These results were then validated in an external cohort of patients who were treated with FOLFIRINOX excluding those in the control cohort who were treated with gemcitabine. In a multivariate model based on the CoxBoost method, the following were selected as predictive markers of FOLFIRINOX efficacy (AUC = 0.81): performance status, liver metastasis, baseline Ca19-9 and CEA levels and baseline splenomegaly. The predictive ability of the model was validated in the external cohort that was also treated with FOLFIRINOX.

Conclusions: Baseline splenomegaly is a predictive marker of a poor response to FOLFIRINOX in aPDAC and remained predictive when associated with other clinical variables.

ARTICLE:

I. Introduction:

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the fourth leading cause of cancer-related death in developed countries¹, and it is expected to become the second leading cause of cancer death in 2030². This cancer carries an extremely poor prognosis, the relative 1-year survival rate for pancreatic cancer is only 26%, and overall 5-year survival is 6% (all stages included³ with no important change in the death rate between 1997 and 2013⁴). Surgical resection of localized PDAC is the only treatment that can provide prolonged survival. However, the diagnosis is often made at an advanced stage in the vast majority of patients (>80%). The median survival is around 19 months for patients with an early-stage disease who undergo a pancreatectomy^{5,6}, while a literature review showed survival periods ranging from 9 to 15 months for a locally advanced disease and about 3 to 6 months for patients diagnosed with an advanced metastatic pancreatic cancer.

Advanced PDAC (aPDAC) remains a non-curable disease with few therapeutic options. Gemcitabine was the standard treatment of pancreatic cancer for more than a decade, with a median survival period of around 5 months and a survival rate at 1 year close to 20%⁷. In 2011, a phase-3 trial compared a combination chemotherapy regimen, consisting of an injection of oxaliplatin, irinotecan, fluorouracil and leucovorin (FOLFIRINOX), with gemcitabine as the first-line therapy in patients with metastatic PDAC. FOLFIRINOX treatment results were superior with a median overall survival period of about 11.1 months and an overall survival rate at 1 year of 48.4%⁸. In 2013, another phase-3 study compared the efficacy and safety of albumin-bound paclitaxel (*nab*-paclitaxel) plus gemcitabine versus gemcitabine monotherapy as the first-line therapy in patients with metastatic PDAC. Similarly, this trial concluded the benefits for the *nab*-paclitaxel gemcitabine combination with a median overall survival period of 8.5 months and a 1-year survival rate of 35%⁹. This treatment became the standard of care in North America, whereas the FOLFIRINOX regimen remains the standard treatment in European countries.

Currently, no biomarkers are able to predict the response to FOLFIRINOX or the gemcitabine *nab*-paclitaxel combination to help clinical decision-making. Oxaliplatin-based chemotherapy was previously proved to alter liver function and to induce sinusoidal injury, which has many similarities to the changes seen in sinusoidal obstruction syndrome¹⁰⁻¹². A recent study conducted in colorectal cancer treated with FOLFOX highlighted that increases in spleen size

correlated with increasing grades of hepatic sinusoidal injury, and could serve as a simple method to identify patients at risk for oxaliplatin-related liver toxicity. However, the effect of FOLFIRINOX on spleen volume was not addressed. Moreover, splenomegaly was associated with a poor prognosis in mice models of cancer¹³, but the prognostic role of the spleen volume was not addressed in human cancer. In this prospective population-based cohort study, we aimed to determine the prognostic/predictive role of baseline splenomegaly in aPDAC patients treated with first-line FOLFIRINOX. We then sought to validate our observations in an external cohort of aPDAC patients treated with first-line gemcitabine or FOLFIRINOX.

II. Materials and methods:

1. Patients

All consecutive patients with histologically proven aPDAC (i.e. metastatic, locally advanced, or recurrent after surgery) treated with FOLFIRINOX at the Georges Francois Leclerc Cancer Center in Dijon, France, between December 2003 and December 2013 were included in the formation of the cohort. Patients were prospectively identified through the computer software of chemotherapy prescription used at the cancer Center (CHIMIO[®], Computer Engineering).

The external validation cohort included consecutive patients with aPDAC who received either gemcitabine or FOLFIRINOX as the first line of treatment at the Besancon University Hospital between January 2005 and December 2013. Patients were prospectively identified through the computer software of chemotherapy prescription used at Besancon Hospital (Bonnes Pratiques de la Chimiothérapie - BPC[®], SQLI).

Using these software programs, patients were prospectively registered at the start of their chemotherapy.

The included patients were either metastatic on a CT-scan or locally advanced PDAC, based on the evaluation of their digestive surgeon. Patients must have received at least one cycle of the chemotherapy regimen. Only patients whose splenic volume could be determined at baseline and after the last cycle of chemotherapy were retained for the analysis.

The database of the external validation was registered and declared to the National French Commission for bioinformatics data and patient liberty. The study was conducted in accordance with standard procedures in France with approval from relevant institutional review boards. At the time of their first visit to the Department of Medical Oncology, all patients with cancer signed a general informed consent document. This consent allowed us to use their clinical and biological data in the cohort study. No additional specific informed consent for this study was necessary.

Demographics, cancer history, pathological, clinical, biological, and radiological data (tumor response according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors [RECIST] v1.1 criteria¹⁴), baseline spleen volume and spleen volume after the last cycle of chemotherapy as well as treatment outcomes were all retrospectively collected from the medical records.

Spleen volume was measured on a CT-Scan as previously described¹⁵. The width (W), length (L), thickness (Th), cross-sectional area and volume (Vol) of the spleen were obtained from abdominal CT examinations. Spleen volume was calculated using the formula: $S\ Vol = 30 + 0.58 (W \times L \times Th)$. A value between 110 and 340mL is considered normal.

2. Statistical Analysis

Data analysis was performed using the statistical software R (<http://www.R-project.org/>) and representations were made with Prism 7 (GraphPad, San Diego, CA, USA). All tests were two-sided, and *P*-values <0.05 were considered statistically significant. All patients were followed until death or the end of data recording (10 August 2017). The response to treatment was determined by CT scans using RECIST version 1.1 following 2 to 3 months of therapy. Progression-free survival (PFS) was calculated as the time from the start of treatment to disease progression, according to RECIST criteria, or death. PFS was censored after 18 months for both FOLFIRINOX cohorts and after 6 months for the GEMCITABINE cohort (control cohort). Overall survival (OS) was calculated as the time from the start of treatment to death. Disease characteristics were examined using the Chi-2 test or Fisher's exact test for qualitative variables and the Mann-Whitney test for continuous variables, as fitting. Pre-treatment and post-treatment splenic volumes were compared by employing the Wilcoxon signed-rank test. Univariate survival analyses were performed using a Cox regression model. Survival probabilities were estimated using the Kaplan-Meier method,

whereas OS and PFS medians were calculated with the reverse Kaplan-Meier method. Survival curves were then compared using the log-rank test. The CoxBoost algorithm, an algorithm used to fit a Cox proportional hazards model by componentwise likelihood-based boosting and that simultaneously selects variables, was used to estimate a multivariate survival model allowing variable selection within the training cohort through the CoxBoost and optimCoxBoostPenalty functions of the R package *CoxBoost*¹⁶. A Receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted with the corresponding estimated linear predictor, and the threshold with the highest sensitivity for a maximized specificity was chosen. Variable selection was then validated by adjusting a multivariate proportional hazard Cox model in the test cohort using previously selected variables on. A new cut-off was subsequently defined by the new corresponding linear predictor.

III. Results:

1. Population-Based Prospective Cohort

In the training cohort, among 243 patients who received L1 for aPDAC, 139 (57.2%) received at least one cycle of FOLFIRINOX as the first line. Seven patients were excluded from the analysis because of missing clinical data, 28 patients because of the absence of CT-scans and seven for splenectomy (*Figure 1A*). Among the 194 patients with aPDAC included in the external validation cohort, 57 (29.5%) were treated with FOLFIRINOX and 137 (70.5%) with gemcitabine. Ten patients were excluded from the analysis because of the absence of CT-scans in the medical records, four patients because of missing clinical data and 12 patients for splenectomy (*Figure 1B*).

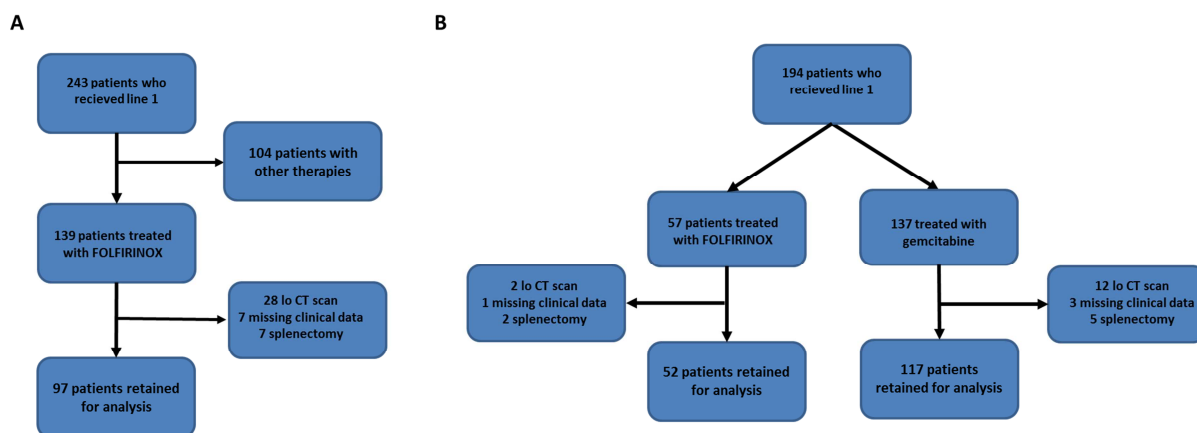


Figure 1 : Flow chart. A Training cohort. B Validation and control cohorts.

In total, the analysis was performed only in patients with complete clinical and radiological information. This analysis was performed on 97, 52 and 117 patients in the respective

training, validation and control cohort. The training and validation cohorts displayed similar patient characteristics, except for three variables (Age, primary tumor resection, liver metastases) (Table 1).

Variable		Training cohort	Validation cohort	Control cohort	P-value		
					Training vs. Validation	Training vs. Control	Validation vs. Control
Sexe-no.(%)	F	70 (54)	27 (47)	47 (34)	0.51	0.002	0.12
	M	60 (46)	30 (53)	90 (66)			
Age-yr	median (range)	66 (23-87)	61 (37-75)	70 (42-93)	0.003	0.007	1.0E-6
	mean (sd)	65.1 (10.6)	61 (8.3)	69 (10)			
WHO performance status-no.(%)	0	41 (32)	23 (40)	39 (29)	0.06	0.05	3.1E-4
	1	74 (57)	33 (58)	65 (48)			
	2	15 (11)	1 (2)	31 (23)			
Surgery of primary-no.(%)	No	113 (87)	39 (68)	110 (81)	0.005	0.24	0.09
	Yes	17 (13)	18 (32)	26 (19)			
Primary location-no.(%)	Body	26 (20)	14 (25)	30 (22)	0.07	0.01	0.94
	Tail	39 (30)	8 (14)	20 (15)			
	Head	65 (50)	35 (61)	85 (63)			
Metastatic status-no.(%)	Locally advanced	38 (29)	21 (37)	27 (20)	0.39	0.10	0.02
	Metastatic	92 (71)	36 (63)	110 (80)			
Lung Metastases-no.(%)	No	110 (85)	54 (95)	109 (80)	0.09	0.43	0.02
	Yes	20 (15)	3 (5)	27 (20)			
Liver Metastases-no.(%)	No	71 (55)	21 (37)	56 (41)	0.04	0.04	0.69
	Yes	59 (45)	36 (63)	80 (59)			
Peritoneal Metastases-no.(%)	No	98 (75)	46 (81)	102 (75)	0.54	1.00	0.50
	Yes	32 (25)	11 (19)	34 (25)			
Bone Metastases-no.(%)	No	124 (95)	55 (96)	130 (96)	-	-	-
	Yes	6 (5)	2 (4)	6 (4)			
Brain Metastases-no.(%)	No	129 (99)	57 (100)	136 (100)	-	-	-
	Yes	1 (1)	0 (0)	0 (0)			
Body mass index-kg/m ²	median (range)	22.5 (16-38.1)	23 (16.4-37.8)	23.4 (13.7-52)	0.60	0.38	0.79
	mean (sd)	23.2 (4.2)	23.6 (5.0)	23.6 (5.1)			
Wheight-kg	median (range)	63 (36-110)	66 (39-108)	65 (35-133)	0.26	0.19	0.97
	mean (sd)	64.5 (14.5)	66.9 (15.4)	67 (15)			
Size-m	median (range)	1.67 (1.48-1.86)	1.68 (1.47-1.83)	1.70 (1.44-1.90)	0.22	0.02	0.66
	mean (sd)	1.66 (0.08)	1.68 (0.09)	1.69 (0.09)			
Albumin baseline-g/L	median (range)	33.5 (14-235)	35.6 (15-46)	30 (14-52)	0.12	0.03	0.001
	mean (sd)	34.8 (22.1)	34.6 (6.7)	30.5 (7.1)			
Ca199 baseline-IU/mL	median (range)	394 (1.5-114900)	301 (1-74922)	518 (0.6-421831)	0.60	0.34	0.20
	mean (sd)	6214 (18592)	5750 (14832)	13283 (46984)			
CEA baseline-ng/mL	median (range)	4.5 (0.3-4117)	4.7 (1-606.9)	3.9 (0.5-345)	0.84	0.45	0.41
	mean (sd)	74.9 (396.1)	34.6 (103.2)	16.7 (46.2)			
Hemoglobin baseline-no.(%)	< 10g/dL	11 (9)	2 (4)	12 (9)	0.35	1.00	0.24
	≥ 10g/dL	114 (91)	53 (96)	119 (91)			
Neutrophil baseline-no.(%)	< 7000/mm ³	83 (66)	37 (74)	87 (72)	0.42	0.43	0.93
	≥ 7000/mm ³	42 (34)	13 (26)	34 (28)			
Lymphocyte baseline-no.(%)	< 1500/mm ³	63 (51)	23 (48)	69 (58)	0.87	0.32	0.31
	≥ 1500/mm ³	61 (49)	25 (52)	50 (42)			
platelet baseline-no.(%)	< 400 000/mm ³	113 (90)	47 (89)	106 (81)	0.94	0.05	0.29

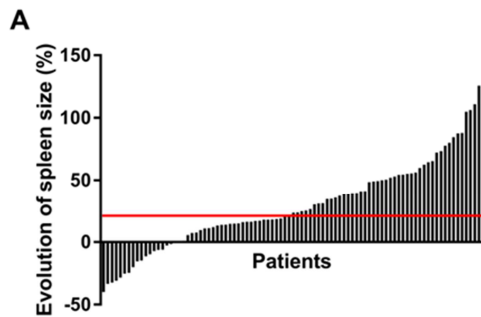
	≥ 400 000/mm ³	12 (10)	6 (11)	25 (19)			
Baseline splenic volum-no.(%)	< 340/ml	79 (81)	45 (87)	100 (85)	0.57	0.54	1.00
	≥ 340/ml	18 (19)	7 (13)	17 (15)			

Table 1 : Comparison of clinical characteristics of training, validation and control cohorts.

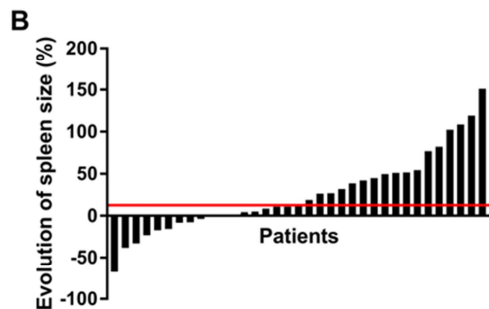
2. Spleen size and chemotherapy regimen

In the training cohort, spleen volume was analysed in 97 patients before therapy and 18 (18.5%) patients had a splenomegaly at baseline. Spleen volume was measured in 90 of the same patients after the last cycle of FOLFIRINOX, and splenomegaly was observed in 27 (30%) of them. The treatment with FOLFIRINOX resulted in a significant increase in spleen size in 81% (73/90) of patients (Wilcoxon signed-rank $P = 6.5e-9$; Fig 2A). The median increase in spleen size was 23% (ranging from -40% to +126%). Splenomegaly, defined as a spleen volume greater than 340ml, was identified in 19% (18/97) of patients before chemotherapy and 36% (33/90) after chemotherapy. In the validation cohort we also observed an increase in spleen size in 69% (24/35) of patients with a median of 13% (ranging from -67% to +151%; Wilcoxon signed-rank $P = 0.01$; Fig 2B). Splenomegaly was found in 13% (7/52) of patients before chemotherapy and 17% (6/35) after chemotherapy.

In contrast, we detected a smaller increase in spleen size in the control gemcitabine cohort:



67% of patients (38/57) had an increase in splenic volume with a median of 11% (ranging from -51% to +117%; Wilcoxon signed-rank $P = 0.009$; Fig 2C). Splenomegaly was present in 15% (17/117) of the patients before chemotherapy and 29% (17/57) after chemotherapy.



Together, these data suggests that FOLFIRINOX and Gemcitabine create an increase in splenic volume in aPDAC patients.

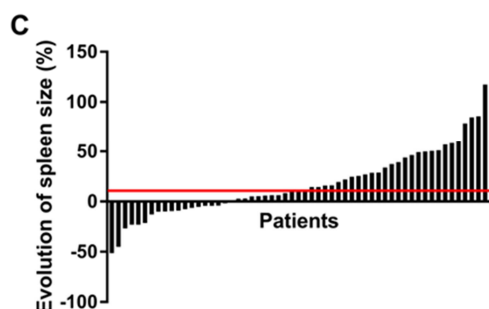


Figure 2 : Evolution of the splenic volume

Waterfall plot showing for each patient the percentage change in splenic volume between the start of treatment and the first evaluation CT-scan (between 2 and 3 months after the initiation of therapy), respectively in the training (A), validation (B) and gemcitabine (C) cohorts. Patients were sorted by increasing order of splenic volume change. The horizontal red line represents the median percentage of the splenic volume change.

3. Association between splenic volume and patients' prognosis.

Variable		PFS			OS		
		HRatio	95% IC	P-value*	HRatio	95% IC	P-value*
Sexe-no.(%)	Female	1			1		
	Male	1.351	[0.919;1.986]	0.13	1.197	[0.787;1.820]	0.4
Age-yr	median (range)	1.017	[0.996;1.037]	0.11	1.026	[1.002;1.051]	0.03
	mean (sd)						
WHO performance status-no.(%)	0	1			1		
	1	1.746	[1.108;2.754]	0.02	1.710	[1.042;2.803]	0.03
	2	3.016	[1.597;5.693]	6.6E-4	3.484	[1.750;6.935]	3.8E-4
Surgery of primary-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.337	[0.169;0.672]	0.001	0.214	[0.086;0.531]	2.7E-4
Primary location-no.(%)	Body	1			1		
	Tail	1.018	[0.583;1.776]	0.95	1.107	[0.576;2.127]	0.76
	Head	0.818	[0.488;1.372]	0.45	0.962	[0.518;1.788]	0.90
Metastatic status-no.(%)	Locally advanced	1			1		
	Metastatic	1.216	[0.796;1.859]	0.36	1.780	[1.080;2.933]	0.02
Lung Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.665	[0.372;1.189]	0.17	0.830	[0.451;1.526]	0.55
Liver Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	1.373	[0.936;2.015]	0.10	1.715	[1.128;2.609]	0.01
Peritoneal Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	1.517	[0.980;2.347]	0.06	1.735	[1.079;2.792]	0.02
Bone Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes	-	-	-	-	-	-
Brain Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes	-	-	-	-	-	-
Body mass index-kg/m ²	Continuous	1.031	[0.985;1.079]	0.19	1.028	[0.977;1.082]	0.29
Wheight-kg	Continuous	1.008	[0.995;1.022]	0.24	1.006	[0.991;1.020]	0.47
Size-m	Continuous	1.427	[0.152;13.380]	0.76	0.817	[0.069;9.71]	0.87
Diabetes-no.(%)	No	1			1		
	DNID	1.103	[0.529;2.297]	0.79	1.241	[0.766;2.013]	0.38
	DID	1.277	[0.826;1.975]	0.27	1.057	[0.482;2.319]	0.89
LDH baseline-IU/mL	Continuous	1.0002	[0.999;1.0004]	0.15	1.0002	[0.9999;1.0004]	0.10
C-Reactive protein baseline-mg/L	Continuous	1.002	[0.999;1.005]	0.06	1.005	[1.002;1.008]	3.6E-5
Albumin baseline-g/L	Continuous	0.988	[0.967;1.009]	0.23	0.976	[0.945;1.008]	0.20
Procalcitonin baseline	Continuous	1.239	[1.087;1.414]	1.9E-4	1.319	[1.150;1.513]	3.9E-7
Ca199 baseline-IU/mL	Continuous	1.00002	[1.00001;1.00003]	5.2E-5	1.00003	[1.00002;1.00004]	1.3E-8
CEA baseline-ng/mL	Continuous	1.001	[1.0005;1.002]	2.8E-5	1.001	[1.0002;1.0011]	4.2E-5
Hemoglobin baseline-no.(%)	< 10 g/L	1			1		
	≥ 10 g/L	0.554	[0.287;1.069]	0.07	0.330	[0.168;0.651]	7.6E-4
Leucocyte baseline-no.(%)	< 10 000/mm ³	1			1		
	≥ 10 000/mm ³	1.268	[0.847;1.896]	0.25	1.425	[0.919;2.211]	0.11
Neutrophil baseline-no.(%)	< 7000/mm ³	1			1		
	≥ 7000/mm ³	1.392	[0.923;2.098]	0.11	1.797	[1.156;2.794]	0.008
Eosinophil baseline-no.(%)	< 400/mm ³	1			1		
	≥ 400/mm ³	0.790	[0.410;1.523]	0.48	0.856	[0.427;1.714]	0.66
Basophil baseline-no.(%)	< 100/mm ³	1			1		
	≥ 100/mm ³	0.683	[0.441;1.056]	0.08	0.521	[0.315;0.860]	0.01
Lymphocyte baseline-no.(%)	< 1500/mm ³	1			1		
	≥ 1500/mm ³	0.763	[0.513;1.134]	0.18	0.614	[0.396;0.949]	0.03
Monocyte baseline-no.(%)	< 1000/mm ³	1			1		
	≥ 1000/mm ³	1.526	[0.969;2.404]	0.07	2.123	[1.311;3.438]	0.002
platelet baseline-no.(%)	< 400 000/mm ³	1			1		
	≥ 400 000/mm ³	0.734	[0.381;1.414]	0.35	0.643	[0.309;1.338]	0.23
thrombopenia-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.656	[0.412;1.043]	0.07	0.715	[0.437;1.171]	0.18
Baseline splenic volum-no.(%)	< 340ml	1			1		
	≥ 340ml	1.812	[1.036;3.169]	0.03	1.983	[1.085;3.624]	0.02

*For variables with more than 2 modalities, the right P-value corresponds to the overall model.

Table 2 : Results of univariate Cox analysis on the training cohort

In the training cohort, univariate Cox analyses identified six prognostic factors for PFS and 15 parameters associated with OS, with *P*-values less than 0.05 (Table 2). Surprisingly, baseline splenomegaly was associated with poor PFS (median PFS = 3.6 versus 6.9 in patients with and without splenomegaly, respectively; log-rank *P* = 0.03) and poor OS (median OS = 6.4 versus 9.6 in patients with and without splenomegaly, respectively; log-rank *P* = 0.02) (Figure 3A and B).

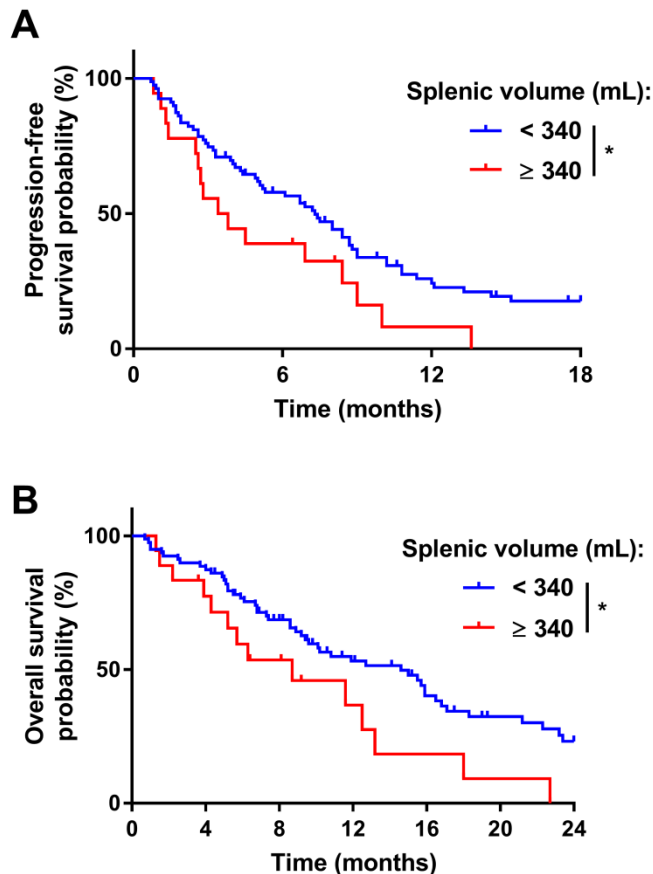


Figure 3: Prognostic role of the pre-treatment splenic volume in the training cohort
 Kaplan-Meier estimates for progression-free survival (A) and for overall survival (B) in the training cohort; patients were stratified according to the splenic volume (mL): abnormal splenic volume (≥340; in red) or normal splenic volume (<340; in blue). *: *P*-value < 0.05; **: *P*-value < 0.01; ***: *P*-value < 0.001; ns: not significant.

In the validation cohort (Table 3), baseline splenomegaly was also associated with poor PFS (median PFS = 2.1 versus 7.2 in patients with and without splenomegaly, respectively; log-rank *P* = 0.01) and poor OS (median OS = 2.1 versus 15 in patients with and without splenomegaly, respectively; log-rank *P* = 0.004) (Figure 4A and B). In contrast, within the control cohort of patients treated with gemcitabine (Table 4), baseline splenomegaly was not associated with poor PFS (median PFS = 2.7 versus 2.7 in patients with and without splenomegaly, respectively; log-rank *P* = 0.80) and poor OS (median PFS = 5.5 versus 5.2 in patients with and without splenomegaly, respectively; log-rank *P* = 0.90) (Figure 4C and D).

Variable		PFS			OS		
		HRatio	95% IC	P-value*	HRatio	95% IC	P-value*
Sexe-no.(%)	Female	1			1		
	Male	1.587	[0.909;2.772]	0.10	1.166	[0.625;2.175]	0.63
Age-yr	median (range)	1.003	[0.971;1.036]	0.86	1.0005	[0.964;1.038]	0.98
	mean (sd)						
WHO performance status-no.(%)	0	1			1		
	1	1.624	[0.914;2.888]	0.10	1.764	[0.918; 3.388]	0.08
	2	-	-	-	-	-	-
Surgery of primary-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.609	[0.331;1.119]	0.11	0.419	[0.199;0.882]	0.02
Primary location-no.(%)	Body	1			1		
	Tail	2.113	[0.826;5.408]	0.12	2.844	[1.052;7.686]	0.04
	Head	1.147	[0.590;2.230]	0.69	1.191	[0.552;2.568]	0.66
Metastatic status-no.(%)	Locally advanced	1			1		
	Metastatic	1.445	[0.810;2.576]	0.21	1.039	[0.546;1.975]	0.91
Lung Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes						
Liver Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	1.228	[0.690;2.184]	0.48	0.974	[0.513;1.848]	0.94
Peritoneal Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	1.498	[0.748;3.000]	0.25	1.118	[0.515;2.427]	0.78
Bone Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes						
Brain Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes						
Body mass index-kg/m ²	Continuous	0.979	[0.922;1.039]	0.49	1.023	[0.957;1.095]	0.50
Wheight-kg	Continuous	0.996	[0.978;1.014]	0.63	1.002	[0.982;1.023]	0.83
Size-m	Continuous	2.023	[0.063;65.160]	0.69	0.307	[0.006;15.620]	0.56
Albumin baseline-g/L	Continuous	0.918	[0.862;0.977]	0.007	0.927	[0.967;0.990]	0.02
Ca199 baseline-IU/mL	Continuous	1.000	-	0.85	1.000	-	0.26
CEA baseline-ng/mL	Continuous	1.002	[0.999;1.004]	0.25	1.002	[0.9996;1.005]	0.08
Hemoglobin baseline-no.(%)	< 10g/dL	-	-	-	-	-	-
	≥ 10g/dL						
Neutrophil baseline-no.(%)	< 7000/mm ³	1			1		
	≥ 7000/mm ³	1.908	[0.988;3.685]	0.0503	3.139	[1.532;6.430]	0.001
Lymphocyte baseline-no.(%)	< 1500/mm ³	1			1		
	≥ 1500/mm ³	0.727	[0.402;1.317]	0.29	0.987	[0.506;1.925]	0.97
platelet baseline-no.(%)	< 400 000/mm ³	1			1		
	≥ 400 000/mm ³	1.249	[0.525;2.970]	0.61	0.637	[0.195;2.080]	0.45
Baseline splenic volum-no.(%)	< 340/ml	1			1		
	≥ 340/ml	2,853	[1.242;6.554]	0.01	3.170	[1.376;7.302]	0.004

*For variables with more than 2 modalities, the right p-value corresponds to the overall model.

Table 3 : Results of univariate Cox analysis on the validation cohort

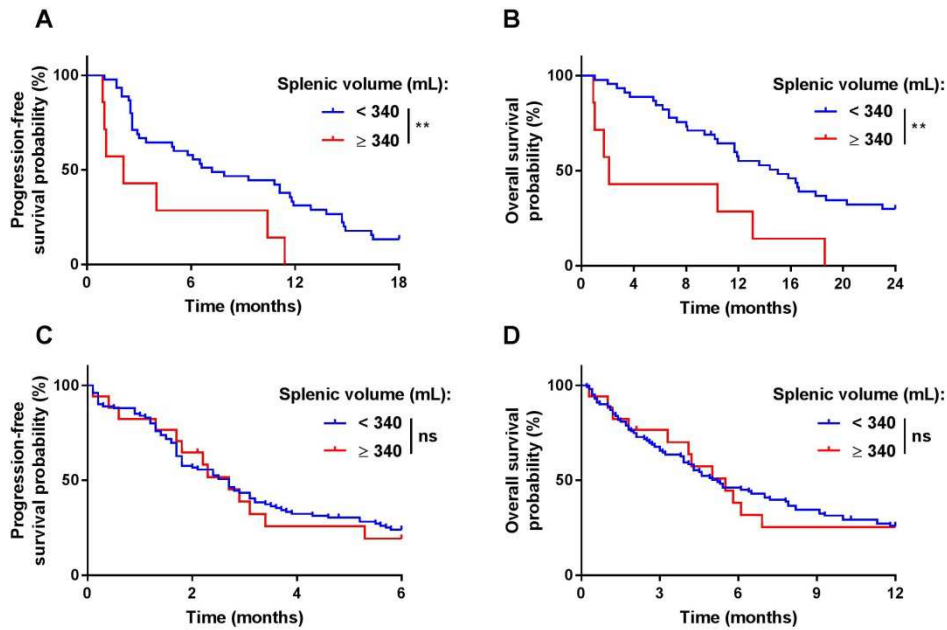


Figure 4: Prognostic role of the pre-treatment splenic volume in the validation and gemcitabine cohorts. Kaplan-Meier estimates for progression-free survival (A and C) and for overall survival (B and D) in the validation cohort (A and B) and in the control cohort (C and D); patients were stratified according to the splenic volume (mL): abnormal splenic volume (≥ 340 ; in red) or normal splenic volume (< 340 ; in blue). *: P-value < 0.05 ; **: P-value < 0.01 ; ***: P-value < 0.001 ; ns: not significant.

Variable		PFS			OS		
		HRatio	95% IC	P-value*	HRatio	95% IC	P-value*
Sexe-no.(%)	Female	1			1		
	Male	1.077	[0.711;1.631]	0.73	1.191	[0.773;1.834]	0.43
Age-yr	median (range)	1.008	[0.989;1.027]	0.40	1.028	[1.009;1.048]	0.004
	mean (sd)						
WHO performance status-no.(%)	0	1			1		
	1	1.357	[0.838;2.199]	0.21	1.284	[0.782; 2.108]	0.32
	2	2.292	[1.326;3.962]	0.003	2.488	[1.423; 4.352]	0.001
Surgery of primary-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.689	[0.409;1.160]	0.16	0.668	[0.39;1.143]	0.14
Primary location-no.(%)	Body	1			1		
	Tail	0.926	[0.481;1.783]	0.82	1.899	[0.975;3.697]	0.06
	Head	0.703	[0.442;1.120]	0.14	1.083	[0.646;1.815]	0.76
Metastatic status-no.(%)	Locally advanced	1			1		
	Metastatic	1.739	[1.019;2.968]	0.04	2.449	[1.336;4.489]	0.003
Lung Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.424	[0.973;2.402]	0.06	1.533	[0.959;2.45]	0.07
Liver Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	1.702	[1.135;2.553]	0.009	2.14	[1.396;3.281]	0.0004
Peritoneal Metastases-no.(%)	No	1			1		
	Yes	0.922	[0.587;1.448]	0.72	0.633	[0.386;1.038]	0.07
Bone Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes	-	-	-	-	-	-
Brain Metastases-no.(%)	No	-	-	-	-	-	-
	Yes	-	-	-	-	-	-
Body mass index-kg/m ²	Continuous	0.999	[0.957;1.043]	0.97	0.999	[0.955;1.046]	0.97
Wheight-kg	Continuous	0.9995	[0.986;1.013]	0.95	1.000	[0.986;1.014]	1.00
Size-m	Continuous	0.907	[0.1044;7.877]	0.93	1.504	[0.164;13.840]	0.72
Albumin baseline-g/L	Continuous	0.929	[0.896;0.964]	6.8E-04	1.000011	[1.000007;1.000016]	5.5E-08
Ca199 baseline-IU/mL	Continuous	1.000007	[1.000003;1.000011]	0.85	1.000	-	0.26
CEA baseline-ng/mL	Continuous	1.004	[0.999;1.008]	0.11	1.006	[1.002;1.011]	0.003
Hemoglobin baseline-no.(%)	< 10g/dL	1			1		

	≥ 10g/dL	0.569	[0.303;1.067]	0.07	0.490	[0.253;0.949]	0.03
Neutrophil baseline-no.(%)	< 7000/mm ³	1			1		
	≥ 7000/mm ³	2.212	[1.422;3.440]	0.0003	2.443	[1.547;3.857]	7.6E-05
Lymphocyte baseline-no.(%)	< 1500/mm ³	1			1		
	≥ 1500/mm ³	0.888	[0.581;1.359]	0.59	0.939	[0.606;1.454]	0.78
platelet baseline-no.(%)	< 400 000/mm ³	1			1		
	≥ 400 000/mm ³	1.036	[0.634;1.694]	0.89	0.561	[0.311;1.010]	0.0506
Baseline splenic volum-no.(%)	< 340/ml	1			1		
	≥ 340/ml	1.078	[0.598;1.944]	0.80	1.038	[0.563;1.913]	0.91

*For variables with more than 2 modalities, the right p-value corresponds to the overall model.

Table 4 : Results of univariate Cox analysis on the control cohort.

4. Generation of a predictive model associated with better efficacy of FOLFIRINOX.

As baseline splenomegaly is a predictive marker of FOLFIRINOX efficacy, we tested whether this parameter could be used with classical clinical variables to generate a model that predicted FOLFIRINOX efficacy. The CoxBoost algorithm was used on the training cohort using the PFS information. Performance status, presence of liver metastases, CA19.9 and CEA levels at baseline and baseline splenomegaly were retained in this model (Table 5).

Variable*	PFS HRatio	
WHO performance status-no.(%)	0-1	1
	2	1.192
Liver Metastases-no.(%)	No	1
	Yes	1.046
Ca199 baseline-IU/mL	median (range)	1.110
	mean (sd)	
CEA baseline-ng/mL	median (range)	1.198
	mean (sd)	
Baseline splenic volum-no.(%)	< 340/ml	1
	≥ 340/ml	1.020

*Only selected variables through CoxBoost selection significantly associated with PFS are shown

Table 5 : Summary of the CoxBoost model estimated on the training set.

The composite variable, which corresponded to the linear predictor estimated using those variables, was associated with PFS and could discriminate between patients with good and poor PFS under FOLFIRINOX (median PFS of 8.8 months versus 3.8 months $p=3.2e-5$; Figure 5A) with an AUC of 0.81 (specificity of 100% and sensitivity of 55%). The same model was also predictive of OS in the same cohort (median OS of 22.3 months versus 6.7 months $p=1.8e5$) (Figure 6A). In the validation cohort, the corresponding composite variable was associated with PFS and could discriminate between patients with good and poor PFS who were treated with FOLFIRINOX (median PFS of 10.5 months versus 5.5 months $p=0.02$; Figure 5B). This composite variable also significantly discriminated between patients with good and poor OS (median PFS of 16.5 months versus 9.9 months $p=0.048$) (Figure 6B).

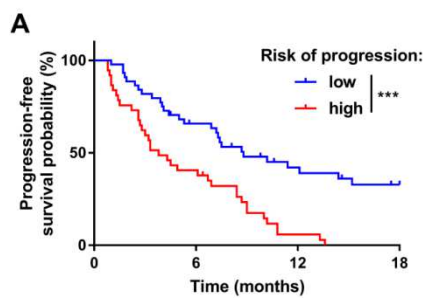


Figure 5: Prognostic role of the composite biomarker on progression-free survival

Kaplan-Meier estimates for progression-free survival in the training (A) and in the validation (B) cohorts; patients were stratified according to the level of the composite variable: low risk of progression (in blue) or high risk of progression (in red). The cut-off was chosen to obtain specificity of 100% and sensitivity of 55% in the training cohort. *: P-value < 0.05; **: P-value < 0.01; ***: P-value < 0.001; ns: not significant.

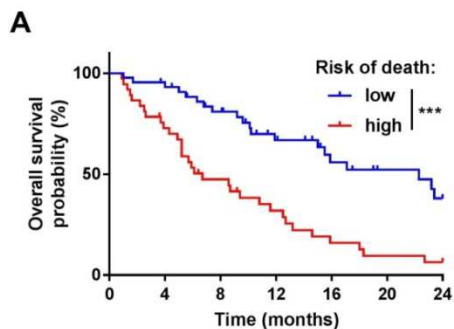
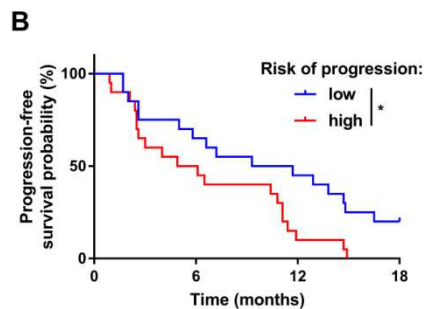
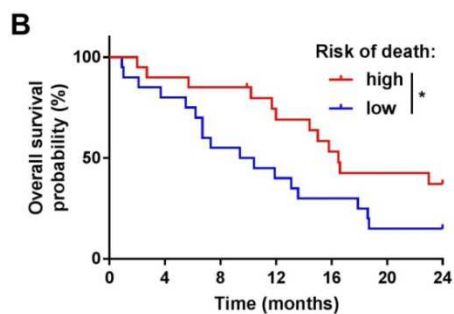


Figure 6: Prognostic value of the composite biomarker for overall survival Kaplan-Meier estimates for overall survival in the training (A) and the validation (B) cohorts; patients were stratified according to the composite variable: low risk of progression (in blue) or high risk of progression (in red). The cut-off was chosen to obtain specificity of 100% and sensitivity of 55% in the training cohort. *: P-value < 0.05; **: P-value < 0.01; ***: P-value < 0.001; ns: not significant.



IV. Discussion

aPDAC is a highly aggressive cancer, with few therapeutic options. Polychemotherapy regimens remain the cornerstone of the therapeutic armamentarium. First-line therapeutic options rely on FOLFIRINOX and the gemcitabine plus *nab*-paclitaxel regimen. Both therapies give similar results in terms of response rate and overall survival and the choice of the clinician is often based on the side effects of each therapy and restrictions because of the

patient's medical conditions. Thus, a surrogate biomarker that helps clinicians make treatment decisions would be of major medical interest.

Our work has brought to light a new predictive biomarker of FOLFIRINOX efficacy on aPDAC, in that we demonstrated the ability of baseline splenomegaly to predict PFS and OS in such patients. Notably, we externally validated our observation in an independent cohort of patients treated at another center. This marker is predictive and not prognostic because in patients treated with gemcitabine, splenomegaly was not associated with outcomes.

In addition, we also generated a predictive model using classical biological and clinical variables in combination with splenomegaly. This predictive model was able to predict PFS > 18 months with a sensitivity of 55% and specificity of 100%. Such a predictive model should be of interest to help decision choices between FOLFIRINOX and gemcitabine plus *nab*-paclitaxel. Some prognostic markers in aPDAC have already been described and comprised: age, performance status, CA19.9 level, and the presence of synchronous metastases¹⁷. The neutrophil/lymphocyte ratio present at the time of diagnosis, which could be a surrogate marker of systemic inflammation, was also demonstrated to be associated with survival in aPDAC^{18,19}.

For gemcitabine, tumor expression of the human equilibrative nucleoside transporter (hENT1) seems to be associated with the increased efficacy of this drug²⁰⁻²², yet the prognostic value of this biomarker remains controversial and has been mainly assessed in an adjuvant setting²³⁻²⁵. However, no predictive markers of FOLFIRINOX efficacy have been reported in previous literature.

Oxaliplatin-based chemotherapy may cause liver injury, such as sinusoidal obstructive syndrome (SOS)^{26,27}. The development of SOS leads to portal hypertension and the resulting clinical presentation of tender hepatomegaly, fluid retention, hyperbilirubinemia and splenomegaly. Spleen size correlates with an increasing grade of hepatic sinusoidal injury²⁸. Oxaliplatin-induced splenomegaly is associated with chemotherapy-induced thrombocytopenia and may negatively affect chemotherapy administration²⁹. However, the prognostic or predictive role of splenomegaly in oxaliplatin-based chemotherapy has never been investigated as far as we know.

While the predictive role of splenomegaly in FOLFIRINOX-treated patients is clearly established, the mechanism that explains the difference between gemcitabine and FOLFIRINOX remains elusive. Numerous studies have shown a link between chronic inflammation and different cancers. Such inflammation could promote cancer growth and could negatively affect the immune system by inducing immune subversion. This relationship between inflammation and cancer prognosis has been observed in many cancers in which the neutrophil/lymphocyte ratio is a prognostic marker¹⁸. Such observations could be related to pathological myelopoiesis, which induces the accumulation of myeloid-derived suppressor cells (MDSCs)^{30,31}. MDSCs are a population of immature myeloid cells close to neutrophils. These cells are present in the circulation and tumors of patients with cancer, and they play a role in the inhibition of the immune response against cancer. In pancreatic cancer, some studies suggest that there is a link between the blood level of MDSCs and the stage of the disease. The number of MDSCs increase when the cancer is growing^{32,33}, and could represent an early marker of disease progression³⁴. In animal models, MDSC accumulation is associated with splenomegaly³⁵. A similar correlation was also observed in hepatocellular carcinoma³⁶. We previously reported that high baseline levels of MDSCs are associated with shorter PFS in metastatic colorectal cancer patients on the FOLFOX regimen³⁷. These data supports the notion that splenomegaly could be a surrogate marker of MDSC accumulation and that MDSCs negatively affect FOLFIRINOX efficacy. However, this hypothesis should be investigated prospectively in patients.

Our study has several strengths. First of all, we evaluated two independent populations treated with FOLFIRINOX and observed similar results in both having used similar cut-offs for splenomegaly. The parameters used in the predictive model are clinically relevant and easy for clinicians to collect. Also, the measurement of splenic volume is reproducible, rapid and easy to perform. Secondly, we built our model within a rigorous methodological framework and provided transparent reporting of the multivariable model as suggested in the TRIPOD statement³⁸. Moreover, discrimination, calibration, and internal validation demonstrated the satisfactory performance and validity of the model. Finally, the predictive role of our biomarker was externally replicated using both an external validation cohort and a control cohort of patients treated with gemcitabine.

The main limitation of our study is related to the long period of inclusion, which could have prompted variations in clinical practices. Additionally, we did not have any patients treated

with gemcitabine plus *nab*-paclitaxel chemotherapy and, as a result, could not investigate the predictive role of our biomarker in this therapy. External validation in other cohorts and different countries are needed to confirm the worldwide relevance of the model.

In conclusion, we propose that baseline splenomegaly could be a predictive biomarker of FOLFIRINOX efficacy in aPDAC. By associating splenic volume with classical prognostic markers (performance status, presence of liver metastases, CA19.9 and CEA baseline levels), we could generate a composite predictive biomarker. Such work could be extended to gemcitabine nab-paclitaxel cohorts to validate the predictive role of our biomarker. A prospective trial using this marker to direct patients towards FOLFIRINOX or gemcitabine plus *nab*-paclitaxel when choosing a treatment would be clinically relevant.

V. References

- 1 Malvezzi, M., Bertuccio, P., Levi, F., La Vecchia, C. & Negri, E. European cancer mortality predictions for the year 2013. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology* **24**, 792-800, doi:10.1093/annonc/mdt010 (2013).
- 2 Society, A. C. Cancer Facts & Figures 2012. *Atlanta: American Cancer Society* (2012).
- 3 Society, A. C. Cancer Facts & Figures 2013. *Atlanta: American Cancer Society* (2013).
- 4 Sharma, C., Eltawil, K. M., Renfrew, P. D., Walsh, M. J. & Molinari, M. Advances in diagnosis, treatment and palliation of pancreatic carcinoma: 1990-2010. *World journal of gastroenterology* **17**, 867-897, doi:10.3748/wjg.v17.i7.867 (2011).
- 5 Bilimoria, K. Y. *et al.* National failure to operate on early stage pancreatic cancer. *Annals of surgery* **246**, 173-180, doi:10.1097/SLA.0b013e3180691579 (2007).
- 6 Vincent, A., Herman, J., Schulick, R., Hruban, R. H. & Goggins, M. Pancreatic cancer. *Lancet (London, England)* **378**, 607-620, doi:10.1016/s0140-6736(10)62307-0 (2011).
- 7 Burris, H. A., 3rd *et al.* Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* **15**, 2403-2413 (1997).
- 8 Conroy, T. *et al.* FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* **364**, 1817-1825, doi:10.1056/NEJMoa1011923 (2011).
- 9 Von Hoff, D. D. *et al.* Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *The New England journal of medicine* **369**, 1691-1703, doi:10.1056/NEJMoa1304369 (2013).
- 10 Mehta, N. N. *et al.* Effect of preoperative chemotherapy on liver resection for colorectal liver metastases. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* **34**, 782-786, doi:10.1016/j.ejso.2007.09.007 (2008).
- 11 Nakano, H. *et al.* Sinusoidal injury increases morbidity after major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases receiving preoperative chemotherapy. *Annals of surgery* **247**, 118-124, doi:10.1097/SLA.0b013e31815774de (2008).
- 12 Vauthey, J. N. *et al.* Chemotherapy regimen predicts steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **24**, 2065-2072, doi:10.1200/jco.2005.05.3074 (2006).

- 13 Bronte, V. & Pittet, M. J. The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity* **39**, 806-818, doi:10.1016/j.immuni.2013.10.010 (2013).
- 14 Eisenhauer, E. A. *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *European journal of cancer* **45**, 228-247, doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026 (2009).
- 15 Prassopoulos, P., Daskalogiannaki, M., Raissaki, M., Hatjidakis, A. & Gourtsoyiannis, N. Determination of normal splenic volume on computed tomography in relation to age, gender and body habitus. *European radiology* **7**, 246-248, doi:10.1007/s003300050145 (1997).
- 16 Binder, H., Allignol, A., Schumacher, M. & Beyersmann, J. Boosting for high-dimensional time-to-event data with competing risks. *Bioinformatics (Oxford, England)* **25**, 890-896, doi:10.1093/bioinformatics/btp088 (2009).
- 17 Ploquin, A. *et al.* Locally Advanced or Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma: Easily Available Factors of Predictive Prolonged Survival Under Gemcitabine. *In vivo (Athens, Greece)* **31**, 731-735, doi:10.21873/invivo.11122 (2017).
- 18 Mei, Z. *et al.* Prognostic role of pretreatment blood neutrophil-to-lymphocyte ratio in advanced cancer survivors: A systematic review and meta-analysis of 66 cohort studies. *Cancer treatment reviews* **58**, 1-13, doi:10.1016/j.ctrv.2017.05.005 (2017).
- 19 Chen, Y., Yan, H., Wang, Y., Shi, Y. & Dai, G. Significance of baseline and change in neutrophil-to-lymphocyte ratio in predicting prognosis: a retrospective analysis in advanced pancreatic ductal adenocarcinoma. *Scientific reports* **7**, 753, doi:10.1038/s41598-017-00859-5 (2017).
- 20 Mohelnikova-Duchonova, B. & Melichar, B. Human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1): do we really have a new predictive biomarker of chemotherapy outcome in pancreatic cancer patients? *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP) ... [et al.]* **13**, 558-563, doi:10.1016/j.pan.2013.09.005 (2013).
- 21 Spratlin, J. *et al.* The absence of human equilibrative nucleoside transporter 1 is associated with reduced survival in patients with gemcitabine-treated pancreas adenocarcinoma. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* **10**, 6956-6961, doi:10.1158/1078-0432.ccr-04-0224 (2004).
- 22 Svrcek, M. *et al.* Human equilibrative nucleoside transporter 1 testing in pancreatic ductal adenocarcinoma: a comparison between murine and rabbit antibodies. *Histopathology* **66**, 457-462, doi:10.1111/his.12577 (2015).
- 23 Jordheim, L. P. & Dumontet, C. Do hENT1 and RRM1 predict the clinical benefit of gemcitabine in pancreatic cancer? *Biomarkers in medicine* **7**, 663-671, doi:10.2217/bmm.13.48 (2013).
- 24 Greenhalf, W. *et al.* Pancreatic cancer hENT1 expression and survival from gemcitabine in patients from the ESPAC-3 trial. *Journal of the National Cancer Institute* **106**, djt347, doi:10.1093/jnci/djt347 (2014).
- 25 Farrell, J. J. *et al.* Human equilibrative nucleoside transporter 1 levels predict response to gemcitabine in patients with pancreatic cancer. *Gastroenterology* **136**, 187-195, doi:10.1053/j.gastro.2008.09.067 (2009).
- 26 Morine, Y., Shimada, M. & Utsunomiya, T. Evaluation and management of hepatic injury induced by oxaliplatin-based chemotherapy in patients with hepatic resection for colorectal liver metastasis. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* **44**, 59-69, doi:10.1111/hepr.12107 (2014).
- 27 Soubrane, O. *et al.* Predicting high grade lesions of sinusoidal obstruction syndrome related to oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases: correlation with post-hepatectomy outcome. *Annals of surgery* **251**, 454-460, doi:10.1097/SLA.0b013e3181c79403 (2010).
- 28 Ribero, D. *et al.* Bevacizumab improves pathologic response and protects against hepatic injury in patients treated with oxaliplatin-based chemotherapy for colorectal liver metastases. *Cancer* **110**, 2761-2767, doi:10.1002/cncr.23099 (2007).
- 29 Overman, M. J. *et al.* Oxaliplatin-mediated increase in spleen size as a biomarker for the development of hepatic sinusoidal injury. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* **28**, 2549-2555, doi:10.1200/jco.2009.27.5701 (2010).

- 30 Gabrilovich, D. I. Myeloid-Derived Suppressor Cells. *Cancer immunology research* **5**, 3-8, doi:10.1158/2326-6066.cir-16-0297 (2017).
- 31 Kumar, V., Patel, S., Tcyganov, E. & Gabrilovich, D. I. The Nature of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment. *Trends in immunology* **37**, 208-220, doi:10.1016/j.it.2016.01.004 (2016).
- 32 Li, X. *et al.* Neutrophil count is associated with myeloid derived suppressor cell level and presents prognostic value of for hepatocellular carcinoma patients. *Oncotarget* **8**, 24380-24388, doi:10.18632/oncotarget.15456 (2017).
- 33 Toor, S. M. *et al.* Myeloid cells in circulation and tumor microenvironment of breast cancer patients. *Cancer immunology, immunotherapy : CII* **66**, 753-764, doi:10.1007/s00262-017-1977-z (2017).
- 34 Rudolph, B. M. *et al.* Increased frequencies of CD11b(+) CD33(+) CD14(+) HLA-DR(low) myeloid-derived suppressor cells are an early event in melanoma patients. *Experimental dermatology* **23**, 202-204, doi:10.1111/exd.12336 (2014).
- 35 Stewart, T. J. *et al.* Interferon regulatory factor-8 modulates the development of tumour-induced CD11b+Gr-1+ myeloid cells. *Journal of cellular and molecular medicine* **13**, 3939-3950, doi:10.1111/j.1582-4934.2009.00685.x (2009).
- 36 Shen, P., Wang, A., He, M., Wang, Q. & Zheng, S. Increased circulating Lin(-/low) CD33(+) HLA-DR(-) myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology* **44**, 639-650, doi:10.1111/hepr.12167 (2014).
- 37 Limagne, E. *et al.* Accumulation of MDSC and Th17 Cells in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Predicts the Efficacy of a FOLFOX-Bevacizumab Drug Treatment Regimen. *Cancer Res* **76**, 5241-5252, doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-3164 (2016).
- 38 Moons, K. G. *et al.* Transparent Reporting of a multivariable prediction model for Individual Prognosis or Diagnosis (TRIPOD): explanation and elaboration. *Annals of internal medicine* **162**, W1-73, doi:10.7326/m14-0698 (2015).

THESE SOUTENUE PAR Mme AARNINK Anne

CONCLUSIONS

Le cancer pancréatique est un des cancers les plus agressifs, et représente aujourd'hui la troisième cause de décès par cancer, avec malheureusement une poursuite de l'augmentation de l'incidence et de la mortalité. Il est dans plus de 80% des cas découvert à un stade avancé, ne permettant pas de résection chirurgicale. Ainsi, à un stade non résécable, le pilier thérapeutique demeure la chimiothérapie. Les deux combinaisons qui ont à ce jour montré la meilleure efficacité en première ligne sont le FOLFIRINOX (préférentiellement utilisé dans les pays européens) et le nab-paclitaxel plus gemcitabine (préférentiellement utilisé aux Etats-Unis). Néanmoins, ces associations de chimiothérapie présentent des bénéfices variables selon les patients et également des profils de toxicité non négligeable. L'identification de marqueurs prédictifs de la réponse à la chimiothérapie apparaît donc souhaitable pour aider à la décision clinique.

D'autre part, la splénomégalie était associée à un mauvais pronostic des cancers dans les modèles murins traités par FOLFIRINOX, ce qui n'a pas été évalué chez l'homme.

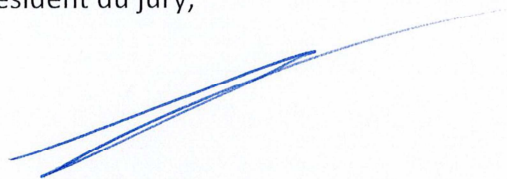
Ainsi, nous avons évalué dans notre étude si la splénomégalie pouvait être un facteur prédictif de la réponse au FOLFIRINOX ou un facteur pronostique du cancer pancréatique avancé, et nous avons cherché à établir un modèle de prédiction de la réponse au FOLFIRINOX.

Les résultats ont permis de mettre en évidence que la présence d'une splénomégalie à l'initiation du traitement par FOLFIRINOX était associée à une plus mauvaise survie sans progression et survie globale comparées à l'absence de splénomégalie. Cette corrélation était visible dans la cohorte d'étude principale et dans la cohorte externe de validation, mais n'était pas reproduite dans la cohorte contrôle dans laquelle les patients recevaient de la gemcitabine, ce qui nous permet d'établir le caractère prédictif de mauvaise réponse au FOLFIRINOX, sans caractère pronostique du cancer.

Par ailleurs, nous avons généré un modèle prédictif à l'aide d'un algorithme de CoxBoost sélectionnant les variables clinico-biologiques significativement associées à la survie sans progression : Performance status, présence ou absence de métastase hépatique, Ca 19-9, ACE et splénomégalie à l'initiation du traitement. Le modèle permettait de distinguer un groupe de bons répondeurs et un groupe de mauvais répondeurs avec une sensibilité de 55% et une spécificité de

100% pour un seuil retenu à une Aire Sous la Courbe (AUC pour *Area Under the Curve*) à 0,81. Ce modèle était également validé dans la cohorte externe de patients traités par FOLFIRINOX.

Le Président du jury,



Pr. F. Ghiringhelli

Centre Georges François LECLERC
FINESS: 210780417 - DMT 198
RPPS 10004027859
SERVICE d'ONCOLOGIE MEDICALE
DR F. GHIRINGHELLI

Vu et permis d'imprimer
Dijon, le 17 JANVIER 2020
Le Doyen



Pr. M. MAYNADIÉ

BILBIOGRAPHIE DE L'AVANT-PROPOS

- 1. Rebecca L Siegel, Kimberly D Miller, Ahmedin Jemal, Cancer Statistics, 2019, CA Cancer J Clin, 69 (1), 7-34 Jan 2019 DOI: 10.3322/caac.21551
- 2. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, *et al.* Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer Res* 2014; 74: 2913–2921.
- 3. Bouvier AM, *et al.* Focus on an unusual rise in pancreatic cancer incidence in France, *Int J Epidemiol* 2017. doi: 10.1093/ije/dyx088
- 4. Roser, M. & Ritchie, H. Cancer. *Our World in Data*(2018)
- 5. Petersen GM, de Andrade M, Goggins M, *et al.* Pancreatic cancer genetic epidemiology consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15:704–10
- 6. Ducreux M, Cuhna AS, Caramella C, *et al.* Cancer of the pancreas: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2015; 26: v56–v68
- 7. Burris, H. A., 3rd *et al.* Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* **15**, 2403-2413 (1997)
- 8. Conroy, T. *et al.* FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* **364**, 1817-1825, doi:10.1056/NEJMoa1011923 (2011)
- 9. Mahaseth H, Brucher E, Kauh J, *et al.* Modified FOLFIRINOX regimen with improved safety and maintained efficacy in pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas.* 2013;42(8):1311–1315. doi:10.1097/MPA.0b013e31829e2006
- 10. L. Dahan, *et al.* FOLFIRINOX until progression, FOLFIRINOX with maintenance treatment, or sequential treatment with gemcitabine and FOLFIRI.3 for first-line treatment of metastatic pancreatic cancer: a randomized phase II trial (PRODIGE 35-PANOPTIMOX) *J Clin Oncol*, 36 (2018)
- 11. Von Hoff, D. D. *et al.* Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *The New England journal of medicine* **369**, 1691-1703, doi:10.1056/NEJMoa1304369 (2013)
- 12. Wang-Gillam A, Li CP, Bodoky G, *et al.* Nanoliposomal irinotecan with fluorouracil and folinic acid in metastatic pancreatic cancer after previous gemcitabine-based therapy (NAPOLI-1): a global, randomised, open-label, phase 3 trial [published correction appears in *Lancet.* 2016 Feb 6;387(10018):536]. *Lancet.* 2016;387(10018):545–557. doi:10.1016/S0140-6736(15)00986-1
- 13. Dahan L, Bonnetain F, Ychou M, *et al.* Combination 5-fluorouracil, folinic acid and cisplatin (LV5FU2-CDDP) followed by gemcitabine or the reverse sequence in metastatic pancreatic cancer: final results of a randomised strategic phase III trial (FFCD 0301). *Gut.* 2010;59(11):1527–1534. doi:10.1136/gut.2010.216135
- 14. Pelzer U, Schwaner I, Stieler J, *et al.* Best supportive care (BSC) versus oxaliplatin, folinic acid and 5-fluorouracil (OFF) plus BSC in patients for second-line advanced pancreatic cancer: a phase III-study from the German CONKO-study group. *Eur J Cancer.* 2011;47(11):1676–1681. doi:10.1016/j.ejca.2011.04.011
- 15. Gilibert M, Chanez B, Rho YS, *et al.* Evaluation of gemcitabine efficacy after the FOLFIRINOX regimen in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(16):e6544. doi:10.1097/MD.0000000000006544
- 16. Nevala-Plagemann C, Hidalgo M, Garrido-Laguna I. From state-of-the-art treatments to novel therapies for advanced-stage pancreatic cancer [published online ahead of print, 2019 Nov 8]. *Nat Rev Clin Oncol.* 2019;10.1038/s41571-019-0281-6. doi:10.1038/s41571-019-0281-6

- 17. Bailey, P. et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature* **531**, 47–52 (2016).
- 18. Janes, M. R. et al. Targeting KRAS mutant cancers with a covalent G12C- specific inhibitor. *Cell* **172**, 578–589.e517 (2018).
- 19. Fakih, M. et al. Phase 1 study evaluating the safety, tolerability, pharmacokinetics (PK), and efficacy of AMG 510, a novel small molecule KRASG12C inhibitor, in advanced solid tumors [abstract]. *J. Clin. Oncol.* **37** (Suppl. 15), 3003 (2019).
- 20. Van Cutsem E, Hidalgo M, Canon JL, et al. Phase I/II trial of pimasertib plus gemcitabine in patients with metastatic pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 2018;143(8):2053–2064. doi:10.1002/ijc.
- 21. Chung V, McDonough S, Philip PA, et al. Effect of Selumetinib and MK-2206 vs Oxaliplatin and Fluorouracil in Patients With Metastatic Pancreatic Cancer After Prior Therapy: SWOG S1115 Study Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2017;3(4):516–522. doi:10.1001/jamaoncol.2016.
- 22. Kinsey CG, Camolotto SA, Boespflug AM, et al. Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers [published correction appears in *Nat Med.* 2019 Mar 27;:]. *Nat Med.* 2019;25(4):620–627. doi:10.1038/s41591-019-0367-9
- 23. Bryant KL, Stalneck CA, Zeitouni D, et al. Combination of ERK and autophagy inhibition as a treatment approach for pancreatic cancer. *Nat Med.* 2019;25(4):628–640. doi:10.1038/s41591-019-0368-8
- 24. Pishvaian, Michael J., ROLFO, Christian Diego, LIU, Stephen V., et al. Clinical benefit of entrectinib for patients with metastatic pancreatic cancer who harbor NTRK and ROS1 fusions. 2018.
- 25. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med.* 2018;378(8):731–739. doi:10.1056/NEJMoa1714448
- 26. Drilon A, Nagasubramanian R, Blake JF, et al. A Next-Generation TRK Kinase Inhibitor Overcomes Acquired Resistance to Prior TRK Kinase Inhibition in Patients with TRK Fusion-Positive Solid Tumors. *Cancer Discov.* 2017;7(9):963–972. doi:10.1158/2159-8290.CD-17-0507
- 27. Heining C, Horak P, Uhrig S, et al. NRG1 Fusions in KRAS Wild-Type Pancreatic Cancer. *Cancer Discov.* 2018;8(9):1087–1095. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0036
- 28. Aguirre AJ, Nowak JA, Camarda ND, et al. Real-time Genomic Characterization of Advanced Pancreatic Cancer to Enable Precision Medicine. *Cancer Discov.* 2018;8(9):1096–1111. doi:10.1158/2159-8290.CD-18-0275
- 29. Chou A, Froio D, Nagrial AM, et al. Tailored first-line and second-line CDK4-targeting treatment combinations in mouse models of pancreatic cancer. *Gut.* 2018;67(12):2142–2155. doi:10.1136/gutjnl-2017-315144
- 30. Golan T, Hammel P, Reni M, et al. Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med.* 2019;381(4):317–327. doi:10.1056/NEJMoa1903387
- 31. Shroff RT, Hendifar A, McWilliams RR, et al. Rucaparib Monotherapy in Patients With Pancreatic Cancer and a Known Deleterious BRCA Mutation. *JCO Precis Oncol.* 2018;2018:10.1200/PO.17.00316. doi:10.1200/PO.17.00316
- 32. Golan, Talia, et al. Phase II study of olaparib for BRCAness phenotype in pancreatic cancer. *JCO.*2018.36.4_suppl.297 (2018): 297-297
- 33. Bendell J, O'Reilly EM, Middleton MR, et al. Phase I study of olaparib plus gemcitabine in patients with advanced solid tumours and comparison with gemcitabine alone in patients with locally advanced/metastatic pancreatic cancer. *Ann Oncol.* 2015;26(4):804–811. doi:10.1093/annonc/mdu581

- 34. O'Reilly EM, Oh DY, Dhani N, et al. Durvalumab With or Without Tremelimumab for Patients With Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Phase 2 Randomized Clinical Trial [published online ahead of print, 2019 Jul 18]. *JAMA Oncol.* 2019;e191588.
- 35. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med.* 2015;372(26):2509–2520. doi:10.1056/NEJMoa1500596
- 36. Beatty GL, O'Hara MH, Lacey SF, et al. Activity of Mesothelin-Specific Chimeric Antigen Receptor T Cells Against Pancreatic Carcinoma Metastases in a Phase 1 Trial. *Gastroenterology.* 2018;155(1):29–32. doi:10.1053/j.gastro.2018.03.029
- 37. Le DT, Wang-Gillam A, Picozzi V, et al. Safety and survival with GVAX pancreas prime and Listeria Monocytogenes-expressing mesothelin (CRS-207) boost vaccines for metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol.* 2015;33(12):1325–1333. doi:10.1200/JCO.2014.57.4244
- 38. Le DT, Picozzi VJ, Ko AH, et al. Results from a Phase IIb, Randomized, Multicenter Study of GVAX Pancreas and CRS-207 Compared with Chemotherapy in Adults with Previously Treated Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma (ECLIPSE Study). *Clin Cancer Res.* 2019;25(18):5493–5502. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2992
- 39. Kinkead HL, Hopkins A, Lutz E, et al. Combining STING-based neoantigen-targeted vaccine with checkpoint modulators enhances antitumor immunity in murine pancreatic cancer. *JCI Insight.* 2018;3(20):e122857. Published 2018 Oct 18. doi:10.1172/jci.insight.122857
- 40. O'HARA, Mark H., O'REILLY, Eileen M., ROSEMARIE, Mick, *et al.* A Phase Ib study of CD40 agonistic monoclonal antibody APX005M together with gemcitabine (Gem) and nab-paclitaxel (NP) with or without nivolumab (Nivo) in untreated metastatic ductal pancreatic adenocarcinoma (PDAC) patients. *Cancer Research*, July 2019. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2019-CT004
- 41. Halbrook CJ, Lyssiotis CA. Employing Metabolism to Improve the Diagnosis and Treatment of Pancreatic Cancer. *Cancer Cell.* 2017;31(1):5–19. doi:10.1016/j.ccell.2016.12.006
- 42. Hingorani SR, Zheng L, Bullock AJ, et al. HALO 202: Randomized Phase II Study of PEGPH20 Plus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine Versus Nab-Paclitaxel/Gemcitabine in Patients With Untreated, Metastatic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *J Clin Oncol.* 2018;36(4):359–366
- 43. <https://www.halozyyme.com/investors/news-releases/news-release-details/2019/Halozyyme-Announces-HALO-301-Phase-3-Study-Fails-To-Meet-Primary-Endpoint/default.aspx>
- 44. Begum A, Ewachiw T, Jung C, et al. The extracellular matrix and focal adhesion kinase signaling regulate cancer stem cell function in pancreatic ductal adenocarcinoma. *PLoS One.* 2017;12(7):e0180181. Published 2017 Jul 10. doi:10.1371/journal.pone.0180181
- 45. Massó-Vallés D, Jauset T, Serrano E, et al. Ibrutinib exerts potent antifibrotic and antitumor activities in mouse models of pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2015;75(8):1675–1681. doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-2852
- 46. Tempero, M. et al. Ibrutinib in combination with nabpaclitaxel and gemcitabine as first-line treatment for patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma: results from the phase 3 RESOLVE study [abstract]. *Ann. Oncol.* **30** (Suppl. 4), mdz154.001 (2019).
- 47. Mehta NN, Ravikumar R, Coldham CA, Buckels JA, Hubscher SG, Bramhall SR, Wigmore SJ, Mayer AD, Mirza DF. Effect of preoperative chemotherapy on liver resection for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol.* 2008; 34:782–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2007.09.007>.
- 48. Nakano H, Oussoultzoglou E, Rosso E, Casnedi S, Chenard-Neu MP, Dufour P, Bachellier P, Jaeck D. Sinusoidal injury increases morbidity after major hepatectomy in patients with colorectal liver metastases receiving preoperative chemotherapy. *Ann Surg.* 2008; 247:118–24. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31815774de>.
- 49. Vauthey JN, Pawlik TM, Ribero D, Wu TT, Zorzi D, Hoff PM, Xiong HQ, Eng C, Lauwers GY, Mino-Kenudson M, Risio M, Muratore A, Capussotti L, et al. Chemotherapy regimen predicts

steatohepatitis and an increase in 90-day mortality after surgery for hepatic colorectal metastases. *J Clin Oncol*. 2006; 24:2065–72. <https://doi.org/10.1200/jco.2005.05.3074>

- 50. Bronte V, Pittet MJ. The spleen in local and systemic regulation of immunity. *Immunity*. 2013; 39:806–18. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.10.010>

**TITRE DE LA THESE : LE VOLUME SPLENIQUE COMME MARQUEUR PREDICTIF DE LA REPONSE AU FOLFIRINOX
DANS LE CANCER DU PANCREAS AVANCE**

AUTEUR : ANNE AARNINK

RESUME :

Introduction : Le FOLFIRINOX est le traitement standard de première ligne pour le cancer du pancréas avancé. Cependant, en raison de sa toxicité, la présence de marqueurs prédictifs de la réponse pourrait aider à la décision thérapeutique.

Matériel et méthode : Nous avons étudié une cohorte de 97 patients porteurs d'un cancer pancréatique avancé, traité par FOLFIRINOX. Nous avons évalué l'association entre le volume splénique et les données de survie par des analyses univariées et multivariées utilisant le modèle de Cox. La cohorte externe de validation était composée de 117 patients traités par GEMCITABINE et 52 patients traités par FOLFIRINOX.

Résultats : Nous avons mesuré le volume splénique des 97 patients en début et fin de traitement. Le volume de la rate augmentait dans 81% des cas, avec une augmentation d'au moins 50 % chez 27% des patients. Le volume splénique initial était prédictif de la survie sans progression (HR 1.812, IC 95% = [1.036-3.169] ; $p= 0.03$) et de la survie globale (HR 1.983, IC 95%= [1.085 – 3.624] ; $p=0.02$). Nous avons ensuite validé ces résultats dans la cohorte externe de patients traités par FOLFIRINOX. Un modèle multivarié utilisant la méthode de CoxBoost a permis de sélectionner les marqueurs prédictifs d'efficacité du FOLFIRINOX: performance status, métastases hépatiques, marqueurs tumoraux, splénomégalie initiale. La capacité prédictive du modèle a été validée dans la cohorte externe traitée par FOLFIRINOX.

Conclusion : La présence d'une splénomégalie initiale est un marqueur prédictif de mauvaise réponse au FOLFIRINOX dans les cancers pancréatiques et demeure prédictive lorsqu'elle est associée à d'autres variables cliniques.

MOTS-CLES : ADENOCARCINOME PANCREATIQUE, CANCER PANCREATIQUE AVANCE, FACTEURS PREDICTIFS, FOLFIRINOX, METASTATIQUE, SPLENOMEGALIE