



HAL
open science

Comparaison du micro-environnement tumoral de tumeurs bronchiques non à petites cellules et de métastases cérébrales : implications pour l'immunothérapie

Aurélien Brindel

► **To cite this version:**

Aurélien Brindel. Comparaison du micro-environnement tumoral de tumeurs bronchiques non à petites cellules et de métastases cérébrales : implications pour l'immunothérapie. Médecine humaine et pathologie. 2019. hal-03298360

HAL Id: hal-03298360

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03298360>

Submitted on 18 Oct 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

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

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE
2019**

**FACULTÉ DE MEDECINE
DE NANCY**

**THESE DE SPÉCIALITÉ
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MÉDECINE**

Présentée et soutenue publiquement
Dans le cadre du troisième cycle des études médicales
Par

Aurélien BRINDEL

Le 08.10.2019

**Comparaison du micro-environnement tumoral de tumeurs bronchiques
non à petites cellules et de métastases cérébrales : implications pour
l'immunothérapie.**

Membres du jury :

M. le Professeur François CHABOT, Nancy

Président

Mme. la Professeure Marie BREVET, Lyon

Juge

M. le Professeur Luc TAILLANDIER, Nancy

Juge

M. le Docteur Michaël DURUISSEAUX, Lyon

Juge et Directeur



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**



FACULTÉ de MÉDECINE
NANCY

Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT
Doyen de la Faculté de Médecine :
Professeur Marc BRAUN
Vice-doyenne :
Pr Laure JOLY

Assesseurs :

Premier cycle : Dr Julien SCALA-BERTOLA
Deuxième cycle : Pr Marie-Reine LOSSER
Troisième cycle : Pr Laure JOLY
SIDES : Dr Julien BROSEUS
Formation à la recherche : Pr Nelly AGRINIER
Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER
CUESIM : Pr Stéphane ZUILY

Chargés de mission

Bureau de docimologie : Pr Guillaume VOGIN
Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER
PACES : Pr Mathias POUSSEL
International : Pr Jacques HUBERT
Vie Facultaire : Dr Philippe GUERCI

Président de Conseil Pédagogique : Pr Louise TYVAERT
Président du Conseil Scientifique : Pr Jean-Michel HASCOET

=====
DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====
PROFESSEURS HONORAIRES

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY - Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Louis BOUTROY - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT - Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER - Henry COUDANE - Jean-Pierre CRANCE - Jean-Pierre DESCHAMPS - Jean-Bernard DUREUX - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE - Bernard FOLIGUET - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSDIDIER - Philippe HARTEMANN - Gérard HUBERT - Claude HURIET - Michèle KESSLER - François KOHLER - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - François MARCHAL - Jean-Claude MARCHAL - Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Daniel MOLÉ - Pierre MONIN - Pierre NABET - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Francis PENIN - Claude PERRIN - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WEBER - Denis ZMIROU

=====
PROFESSEURS ÉMÉRITES

Etienne ALIOT - Pierre BEY - Henry COUDANE - Serge BRIANÇON - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Michèle KESSLER - Alain LE FAOU - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Pierre VILLEMOT - Faiez ZANNAD

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^e Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : (Anatomie)

Professeur Marc BRAUN – Professeure Manuela PEREZ

2^e sous-section : (Histologie, embryologie et cytogénétique)

Professeur Christo CHRISTOV

3^e sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Professeur Guillaume GAUCHOTTE

43^e Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{re} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER - Professeur Antoine VERGER

2^e sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeure Valérie CROISÉ - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Benjamin GORY - Professeur Damien MANDRY - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

44^e Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^e sous-section : (Physiologie)

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUUEL - Professeur Mathias POUSSEL

3^e sous-section (Biologie cellulaire)

Professeure Véronique DECOT-MAILLERET

4^e sous-section : (Nutrition)

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

45^e Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)

Professeur Alain LOZNIIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^e sous-section : (Parasitologie et Mycologie)

Professeure Marie MACHOUART

3^e sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)

Professeur Bruno HOEN - Professeur Thierry MAY - Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

46^e Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)

Professeure Nelly AGRINIER - Professeur Francis GUILLEMIN

4^e sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

47^e Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Professeur Pierre FEUGIER

2^e sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Professeur Thierry CONROY - Professeur Frédéric MARCHAL - Professeur Didier PEIFFERT - Professeur Guillaume VOGIN

3^e sous-section : (Immunologie)

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

4^e sous-section : (Génétique)

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

48^e Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{re} sous-section : (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER

Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

2^e sous-section : (Médecine intensive-réanimation)

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY

3^e sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

4^e sous-section : (Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie)

Professeur Nicolas GIRERD - Professeur François PAILLE - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^e Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{re} sous-section : (Neurologie)

Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Sébastien RICHARD - Professeur Luc TAILLANDIER Professeure Louise TYVAERT

2^e sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

3^e sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Vincent LAPREVOTE - Professeur Raymund SCHWAN

4^e sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)

Professeur Bernard KABUTH

5^e sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean PAYSANT

50^e Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{re} sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

2^e sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX

3^e sous-section : (Dermato-vénérologie)

Professeure Anne-Claire BURSZTEJN - Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4^e sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^e Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{re} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

2^e sous-section : (Cardiologie)

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET - Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL

3^e sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Juan-Pablo MAUREIRA - Professeur Stéphane RENAUD

4^e sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

52^e Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{re} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2^e sous-section : (Chirurgie viscérale et digestive)

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeure Adeline GERMAIN

3^e sous-section : (Néphrologie)

Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

4^e sous-section : (Urologie)

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

53^e Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

1^{re} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie)

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY

Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

3^e sous-section : (Médecine générale)

Professeur Jean-Marc BOIVIN – Professeur Paolo DI PATRIZIO

54^e Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{re} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET

Professeur Emmanuel RAFFO - Professeur Cyril SCHWEITZER

2^e sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^e sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

4^e sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{re} sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2^e sous-section : (*Ophthalmologie*)

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD

3^e sous-section : (*Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie*)

Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61° Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64° Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65° Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeure associée Sophie SIEGRIST

Professeur associé Olivier BOUCHY

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42° Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON

2^e sous-section : (*Histologie, embryologie, et cytogénétique*)

Docteure Isabelle KOSCINSKI

44° Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Catherine MALAPLATE - Docteur Marc MERTEN - Docteur Abderrahim OUSSALAH

2^e sous-section : (*Physiologie*)

Docteure Silvia DEMOULIN-ALEXIKOVA - Docteur Jacques JONAS

45° Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

2^e sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteure Anne DEBOURGOGNE

46° Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Cédric BAUMANN - Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE

Docteur Arnaud FLORENTIN (stagiaire)

2^e sous-section (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteure Isabelle THAON

3^e sous-section (*Médecine légale et droit de la santé*)

Docteur Laurent MARTRILLE

47° Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Docteur Julien BROSEUS – Docteure Maud D'AVENI

2^e sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Docteure Lina BOLOTINE

3^e sous-section : (*Immunologie*)

Docteure Alice AARNINK (stagiaire)

4^e sous-section : (*Génétique*)

Docteure Céline BONNET

48° Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1° sous-section : (*Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire*)

Docteur Philippe GUERCI

2° sous-section : (*Médecine intensive-réanimation*)

Docteur Antoine KIMMOUN

3° sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie*)

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

2° sous-section : (*Neurochirurgie*)

Docteur Fabien RECH (stagiaire)

3° sous-section : (*Psychiatrie d'adultes ; addictologie*)

Docteur Thomas SCHWITZER (stagiaire)

50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

4° sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3° sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4° sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire*)

Docteure Nicla SETTEMBRE

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1° sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Docteur Anthony LOPEZ

2° sous-section : (*Chirurgie viscérale et digestive*)

Docteur Cyril PERRENOT

54° Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

4° sous-section : (*Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; Gynécologie médicale*)

Docteure Eva FEIGERLOVA

5° sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale*)

Docteur Mikaël AGOPIANTZ (stagiaire)

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1° sous-section : (*Oto-Rhino-Laryngologie*)

Docteur Patrice GALLET

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5° Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

7° Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES

Madame Christine DA SILVA-GENEST

19° Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

64° Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

65° Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Nathalie AUCHET - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ - Monsieur Christophe NEMOS

66° Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

69° Section : NEUROSCIENCES

Madame Sylvie MULTON

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Cédric BERBE - Docteure Kénora CHAU

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-
PAPADOPOULOS (1996) *Université de
Pennsylvanie (U.S.A)*
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL
(2007)
*Université de Dundee (Royaume-
Uni)*
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

A notre Maître et Président de jury

**Monsieur le Professeur F. Chabot,
Professeur des Universités et Praticien Hospitalier en Pneumologie,**

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de cette thèse.

Nous vous remercions de nous avoir guidé tout au long de notre internat de pneumologie. Votre rigueur dans le champ des sciences et de la clinique est un exemple qui nous montre la voie de l'excellence.

Nous vous remercions pour votre soutien et pour vos conseils avisés concernant les choix professionnels que nous avons pu effectuer tout au long de ces cinq dernières années.

Enfin, merci de nous accueillir dans votre équipe pour la suite de notre formation.

Veillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A notre Maître et Directeur de thèse

**Monsieur le Docteur M. Duruisseaux,
Maître de Conférence des Universités et Praticien Hospitalier en Pneumologie,**

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de diriger cette thèse.

Nous vous remercions de nous avoir fait découvrir la recherche clinique, notamment dans le domaine de la cancérologie thoracique. Nous sommes reconnaissants pour votre disponibilité, pour votre aide précieuse dans ce travail et pour votre compagnonnage bienveillant. Votre rigueur scientifique et votre parcours professionnel sont pour nous un exemple.

Nous espérons pouvoir continuer à travailler ensemble dans le futur.

Veillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A notre Maître et juge

**Madame la Professeure M. Brevet,
Professeur des Universités et Praticien Hospitalier en Anatomie et Cytologie
Pathologiques,**

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse.

Nous vous remercions de partager votre expertise d'anatomo-pathologiste dans le domaine du micro-environnement tumoral des métastases cérébrales et des tumeurs pulmonaires. Nous vous remercions pour votre aide depuis presque deux ans dans l'ensemble des travaux que nous avons pu réaliser en collaboration avec les Hospices Civils de Lyon. Merci de nous avoir accueilli si gentiment dans votre service pendant l'année recherche de Master 2. Enfin, nous espérons que nous pourrons continuer à travailler ensemble dans le futur sur d'autres projets.

Veillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A notre Maître et juge

**Monsieur le Professeur L. Taillandier,
Professeur des Universités et Praticien Hospitalier en Neurologie,**

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse.

Nous vous remercions de partager vos connaissances et votre expertise dans le domaine des métastases cérébrales et de leur traitement ainsi que la gentillesse avec laquelle vous avez accepté de juger cette thèse.

Veillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

A ma famille

A mes parents : Merci du plus profond du cœur de m'avoir permis d'en arriver là. Pour tous ces aller-retours à Rouen, à Lyon, à Nancy et partout ailleurs où j'ai pu aller. Vous êtes toujours là quand on a besoin de vous, toujours partant pour de nouvelles aventures et pour me soutenir quand ça va moins bien. Votre éducation, vos principes et votre amour débordant sont un exemple pour moi !

A mes deux sœurs chéries : Merci de m'avoir supporté depuis le début, même si parfois je suis un peu fatiguant et pour m'avoir remis à ma place quand j'en avais besoin. Merci à Emilie pour avoir fait sauter les dents qui le nécessitaient (promis je t'en veux plus) et à Emmanuelle pour avoir pris à ma place parce que je suis le petit dernier... Longue vie à nos vacances familiales et à tous ces moments précieux qu'on partage depuis plus de 30 ans...

A Eric : Merci pour me remettre les pieds sur terre quand il le faut et pour ouvrir les portes quand les réveils ne suffisent plus. Je suis ravi de pouvoir te compter dans la famille et pouvoir encore partager ces bons moments avec toi.

A Mamie Louloute : Je suis si triste que tu sois partie avant de pouvoir fêter ce moment avec moi. Tes encouragements et ton « c'est bien ma puce » me manque tous les jours. Ce travail t'est dédié.

A Zoé : Ce « petit » verre sur la plage de Sihanoukville aura transformé ma vie. Merci pour toutes ces soirées à relire les projets, articles, PPT et pour ton aide linguistique sur cette thèse ++++ et sans jamais rechigner (ou presque). Mon internat sans toi n'aurait pas du tout été le même. Je suis admiratif de ton courage, de ta rigueur et de l'amour que tu distilles chaque jour tout autour de toi. Je ne dis plus rien car tu sais déjà tout.

A Malo et Solène : Merci de faire de moi le plus heureux des tontons. Vous voir grandir me remplit de joie !!!!

Aux Lefoll, Bessard, Rouxel, Duchemin : Merci pour votre soutien depuis le début, je vous promets je vais essayer de soigner mes TOC devant les patients...

Aux Hanss (deux S), Paire : Merci de m'avoir accueilli avec tant de gentillesse dans votre famille et pour tous ces bons moments passés ensemble.

Aux Médecins d'ici et d'ailleurs :

Au Dr Tiotiu : Merci pour les choses que tu m'as transmises au cours de cet internat et pour ton encadrement lors des projets universitaires. J'espère que nous pourrons partager de nouveaux projets à ton retour.

Au Dr Scheid et aux médecins de la clinique Gentilly : Merci pour tes conseils précieux en RCP à St Avold et pour ces semaines passées à la clinique.

Au Dr Barritault : Merci pour ton aide lors de mon année recherche et pour m'avoir transmis ta passion pour les lignes de code.

Au Dr Michy : Merci Bertrand pour l'intérêt que tu as porté à mon évolution et à ma formation. Ces années passées en ta compagnie au CHU et à Thionville m'ont apporté énormément !

Aux Drs Botrus et Laugros : Merci pour votre accueil, votre confiance et pour votre formation lors de mon passage dans votre service.

Aux médecins du service de réanimation de Thionville : Votre enthousiasme à presque failli me faire changer de bord. Finalement, cancéro ou tuyaux c'est le même topo ? ☺

Aux médecins du service de radiothérapie de Mercy et du service d'anatomie pathologique des Hospices Civils de Lyon : On n'a pas le même maillot mais on a la même passion.

A la bande des « copains » Rouennais

•

A CC et CCette : Pour toutes ces soirées à discuter, rire, jouer, boire... Une attention pour les petits riens qui font de toi quelqu'un de précieux, merci d'être toujours là quand j'en ai besoin. Pensée émue pour ces deux superbes mariages que vous nous avez offerts. Beijos grandes !

A Cicy et Anne-So : Pour la maison de Darnetal qu'on a rincé, pour les soirées mémorables, pour les 56 heures passées ensemble dans ce bus à Sumatra, pour cette envie partagée de toujours foncer et de kiffer la vie. « Oh écoute on s'en fou et après on couche le bar ». Pour m'avoir aidé à choisir pneumo, pour Anne-so et son apaisement lors du mascaret Cyril. Des bisous !

A Dickos et Margot : Pour t'énerver même quand y'a personne, pour tes principes et surtout pour ton amitié inébranlable, t'es quelqu'un sur qui je pourrais toujours compter et je te remercie pour ça !! Pour Margot et son optimisme à toute épreuve, pour son énergie débordante et pour ces supers moments passés ensemble !

A Gaga et MC : Pour nos débats sans fin, pour nos fils rouges en soirée, pour la barque et le pédalo sur lesquels t'es finalement monté haha ! Pour MC, pour t'avoir rendu amoureux, toi le coureur solitaire. A très vite !!

A Hugo et Capucine : Pour ta bienveillance, pour ta rigueur, pour ton hédonisme, pour être là quoi qu'il arrive, pour les swings magistraux sur la plage de Trouville et pour toutes ces soirées à refaire le monde ensemble. Pour Capu, pour ton enthousiasme et ta joie de vivre ! Je ne vais pas vous lâcher croyez-moi !!!

A Marco, Gagou et Georges : Pour notre amitié depuis J1, pour ces soirées passées à discuter de ce moment précis où on serait Docteur devant l'IPEC, pour ton courage après 9 rattrapages et surtout pour ton affection et ton soutien sans faille dans nos parcours pro et personnels. Pour Gagou et le petit Georges qui me remplissent de joie à chacune de nos rencontres.

A Polish : Pour tes choix bizarres, loufoques mais toujours drôles. Pour tes câlins et tes mots tout doux. Pour ton foie à toute épreuve et pour m'avoir faxé de Varsovie sans un sou ! Des câlins tout doux encore pour ces prochaines années.

A Stan/Pam : Pour ton plongeon raté, pour ta passion pour le ski/fou rire, pour toutes ces barres qu'on s'est mises, pour m'avoir prêté ta penderie pour dormir.

A mes rencontres pendant mon Internat.

A mes co-internes de pneumologie, la dream team, promotion 2014 :

A Brie : Pour tes blagues toujours déplacées mais tellement drôles, pour essayer de nous choper comme BipBip et Coyote. Pour le BPC3 et ces moments de craquages complets !

A Bruno : Pour ta rigueur et pour ton efficacité. Pour ces soirées de DES/DESC à refaire le monde de la pneumologie. Pour ton accueil le premier jour en Lorraine.

A Carole : Pour ta bonne humeur, ta joie de vivre, les soirées dans le jacuzzi vont me manquer !

A Hélène : Pour ton énergie débordante, pour toujours tomber en soirée, pour les soirées à l'internat de Thionthion et pour tes craquages en HDJ !

A Laura : Pour ton amitié, ta bienveillance et tes qualités d'Irlandaise quand le soleil vient à se coucher. Pour toutes ces soirées le son à fond à refaire le monde.

A Simon : Pour ta mauvaise fois quand il est tard, pour ton amour des Vosges, pour les soirées dans ton chalet et pour tous les prochains moments qu'on va passer ensemble ces deux prochaines années !!! Pour Sam qui croit encore à tes excuses quand il est tard et pour ces bons moments ensemble.

Aux plus vieux :

A romain : Pour les montées immondes d'Andorre et pour les bains glacés des lacs de montagne. Pour ta passion de la montagne. Pour Fanny la Parisienne délocalisée à Nancy et votre magnifique petit Noé. Je suis ravi de passer cette année avec toi.

A Arnaud : Pour ton calme et ton self control même à l'USIR tout seul avec 5 entrées. Ça va être cool de pouvoir bosser avec toi cette année.

Aux autres : Merci à A.Knoepfli/J.Soler/L.A.Essari/A.Boubaya/M.Faure/D.Huet/M.Zysman pour m'avoir formé dans tous les domaines de la pneumologie !!! Mot spécial à J.Perrin qui nous a supporté avec Brie au BPC3.

Aux plus jeunes :

A Julia : L'efficacité et la bonne humeur, ravi de travailler avec toi ces prochaines années.

A Pauline : Smart et efficace, bon vent du côté de Lyon, tu devrais t-y plaire.

A Mathilde : La pneumo-déglingos sans jamais de sousse !!!!

A Pierre : Pour les moments de détente en DES et DESC...

A Léa : Je suis content qu'on puisse bosser ensemble l'année prochaine.

A Saïd : Pour tes pétages de câbles dans le DP, bonne continuation à Mercy.

A Benjo : Le virtuose de la VNI et du lever de coude.

A Amaury : Pour ta passion des PSG et pour ton aide au labo du sommeil.

A tous les autres sans qui ce DP ne serait rien et sans qui l'ambiance ne serait pas aussi bonne !!!

A mes co-internes d'ici et d'ailleurs :

Julia et Ayla : Un esprit de radiologue dans un corps de pneumologue !

Pauline et Marine : J'ai failli m'inscrire à un Karaoké Céline Dion après ce semestre en réa.

A C2C : Les meilleurs coups de tampon de ma vie sur ta blouse... elle porte encore la trace de mon passage, génial !

JB, Gros désir, Julie, JF, Laurène et la bande de l'ICL : Nos délires et les tartes au citron du mercredi me manqueraient presque !!

Julien et Manon : Les bières place St-Louis et les blocs noirs of course !

Manon : Le contournage de la prostate de Mr Duchemol que tu réalises actuellement pèse massivement sur la réussite de cette thèse. Merci beaucoup pour ton aide lors de ce dernier semestre.

A tous les copains de l'**internat Lobau** !! Remerciements spéciaux à Guillaume et Marie, des bulles dans l'eau mais aussi dans l'air ! A bientôt à Nantes ! A Jocelyn pour son romantisme à toute épreuve. A Gauthier pour toutes ces soirées mémorables ! A Omar pour la colloc de l'espace et pour tes trapèzes.

Enfin merci à toute l'équipe paramédicale du département de pneumologie, mention spéciale pour Patricia qui m'a vu grandir depuis mon J1 ☺, à très vite pour la suite de l'aventure.

SERMENT

« Au moment d'être admis 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 dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu 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 et méprisé si j'y manque ».

ABRÉVIATIONS

| | |
|--------------------------------|--|
| AIR | Adaptative immune resistance |
| ALK | Anaplastic lymphoma kinase |
| BBB | Blood–brain barrier |
| BHE | Barrière hémato-encéphalique |
| BM | Brain metastasis |
| CBNPC | Carcinome bronchique non à petites cellules |
| CCL21 | Chemokine C-C ligand 21 |
| CDM | Cellules dérivées de la moëlle |
| CM | Charge mutationnelle |
| CNS | Central nervous system |
| CTLA-4 | Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4 |
| EGFR | Epidermal growth factor receptor |
| FFPE | Formalin-fixed paraffin-embedded |
| GPA | Graded prognostic assessment |
| IFN-γ | Interferon gamma |
| IHC | Immuno-histochimie / Immunohistochemical |
| IRM | Imagerie par résonance magnétique |
| HCL | Hospices Civils de Lyon |
| IDO1 | Indoleamine 2,3-dioxygenase-1 |
| ImI | Immunological ignorance |
| InI | Intrinsic induction |
| IT | Immunological tolerance |
| ITK | Inhibiteur de tyrosine kinase |
| LIT | Lymphocyte infiltrant la tumeur |
| MC | Métastases cérébrales |
| MET | Micro-environnement tumoral |
| NSCLC | Non-small cell lung cancer |
| P4HA2 | Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-2 |
| PD-1 | Program death 1 |
| PD-L1 | Program death ligand 1 |
| PD-L2 | Programmed cell death 1 ligand 2 |
| PMC | Patient avec métastases cérébrales |
| PSMC | Patient sans métastases cérébrales |
| RAD50 | DNA repair protein RAD50 |
| RANO | Response assessment in neuro-oncology |
| RECIST | Response evaluation criteria in solid tumors |
| RCIT | Radiothérapie cérébrale in-toto |
| RST | Radiothérapie stéréotaxique |
| SNC | Système nerveux central |
| SG | Survie globale |
| SSP | Survie sans progression |
| TIGIT | T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains |
| TIL | Tumor infiltration lymphocyte |
| TIS | Tumor infiltration signature |
| TPS | Tumor proportion score |

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanisme d'action des anticorps monoclonaux contre PD-L1/PD-1 adapté de Anagnostou et Brahmer [25]. **A/** PD-1 exprimée sur les cellules T activées se lie à PD-L1 et PD-L2 inhibant ainsi l'activation des cellules T cytotoxiques dans les tissus périphériques après la réponse inflammatoire via le recrutement de phosphatase inhibitrice SHP-2 et la diminution de l'expression de la protéine anti-apoptotique BCL-XL et inhibant PI3K/AKT. **B/** Les anticorps monoclonaux vont cibler le couple PD-1-PD-L1 permettant ainsi de rétablir un recrutement lymphocytaire accru et le rétablissement de la réponse antitumorale. 35

Figure 2: Classification de Teng et al. [57], basée sur l'infiltration tumorale par les leucocytes et par l'expression de PD-L1. La classification est répartie en quatre catégories, résistance immunitaire adaptative, ignorance immunitaire, tolérance et induction intrinsèque. APC: Antigen-Presenting Cell, M2: M2 macrophage, TH1: Lymphocyte T helper 1. MDSC : Myeloid-Derived Suppressor Cell... 36

Figure 3: Vision schématique de l'impact de la mort cellulaire induite par la radiothérapie ou la chimiothérapie sur le cycle de l'immunité antitumorale. 1| Agent cytotoxique entraînant la lyse cellulaire, 2| libération de HMGB1, ATP et Calréticuline permettant la maturation et le recrutement des cellules dendritiques. 3| Présentation des antigènes tumoraux par les cellules dendritiques aux lymphocytes T (LyT) cytotoxiques naïfs. 5| Les lymphocytes T activés vont se diriger vers le site tumoral et l'amplification de la réaction immunitaire va se faire par l'intermédiaire de production de chimiokines de type CXCL9-10-11. 46

Figure 4: Evolution schématique après administration de chimiothérapie et/ou de radiothérapie dans le temps d'une tumeur immunologiquement « froide » (A) et peu infiltrée par les lymphocytes T (flèche rouge) en tumeur « chaude » (B), très inflammatoire dont la réaction immunitaire peut être amplifiée par l'action de l'immunothérapie. 47

TABLE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Score pronostic Lung-molGPA issu de [10] | 22 |
| Tableau 2 : Principales études prospectives d'immunothérapie..... | 31 |

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|----|
| PARTIE I : INTRODUCTION | 21 |
| 1. Incidence et pronostic des métastases cérébrales dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules. | 21 |
| 2. Traitement des MC des CBNPC hors immunothérapie | 22 |
| 2.1. Prise en charge neurochirurgicale | 22 |
| 2.2. Radiothérapie | 23 |
| 2.3. Traitement médicamenteux..... | 24 |
| 3. Immunothérapie dans les CBNPC..... | 26 |
| 3.1. Principaux biomarqueurs de l'efficacité de l'immunothérapie..... | 27 |
| 3.2. Immunothérapie, traitement de référence des CBNPC de stade IV | 28 |
| 3.3. Exclusion des patients présentant des MC dans les premiers essais cliniques | 29 |
| 4. Efficacité de l'immunothérapie dans les MC..... | 33 |
| 4.1. Rationnel de l'utilisation de l'immunothérapie dans les métastases cérébrales. | 33 |
| 4.2. Efficacité de l'immunothérapie en monothérapie dans les métastases cérébrales | 34 |
| 4.3. Intérêt de l'utilisation de la chimiothérapie et de la radiothérapie en combinaison avec l'immunothérapie. | 36 |
| 4.4. Efficacité des combinaisons de l'immunothérapie et de la radio/chimiothérapie dans les métastases cérébrales | 37 |
| 5. Intérêt des approches transcriptomiques dans le cadre de l'immunothérapie et hypothèse de recherche dans les métastases cérébrales..... | 39 |
| PARTIE II : ARTICLE ORIGINAL | 41 |
| PARTIE III : CONCLUSION ET PERSPECTIVE | 59 |
| PARTIE IV : BIBLIOGRAPHIE | 60 |

PARTIE I : INTRODUCTION

1. Incidence et pronostic des métastases cérébrales dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules.

Le carcinome bronchique non à petites cellules (CBNPC) est la première cause de mortalité par cancer dans le monde et en France estimée à 33 117 décès en 2018 [1, 2]. La maladie est diagnostiquée dans 80% des cas à un stade avancé ou métastatique et la survie à 5 ans est estimée à 17% tous stades confondus [3, 4]. La survenue de métastases cérébrales (MC) au cours de la maladie est un tournant dans l'histoire naturelle des CBNPC. Entre 40 et 50% des patients présentent des MC au diagnostic ou en présenteront au cours de leur maladie [5–7]. Le traitement des MC diffèrera en fonction de la situation clinique (inaugurale, symptomatique ou non, au cours de l'évolution sous traitement et en cas de présence d'altérations moléculaires) et selon l'espérance de vie du patient. Le nombre de patients présentant des MC augmente du fait d'une meilleure détection de la maladie par imagerie par résonance magnétique (IRM), imagerie plus performante et plus sensible que le scanner. L'allongement de la survie globale des patients est constant dû à l'amélioration des chimiothérapies cytotoxiques, des thérapies ciblées et de l'avènement de l'immunothérapie. Le pronostic de ce groupe hétérogène a initialement été défini par le score diagnosis-specific graded prognostic assessment (GPA) constitué de quatre facteurs : l'âge, l'indice Karnofsky, la présence de métastases extra-cérébrales et le nombre de métastases cérébrales. Quatre classes étaient définies associées à un pronostic allant de 3 à 14,8 mois [8]. La mise en évidence d'une addiction oncogénique telle qu'une mutation activatrice de l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR), ou un réarrangement du gène *Anaplastic Lymphoma Kinase* (ALK) est associée à un meilleur pronostic et a conduit à actualiser le score GPA présenté dans le tableau 1 [9].

Tableau 1: Score pronostic Lung-molGPA issu de [10]

| Facteurs pronostic | Critère d'évaluation GPA ^a | | |
|---------------------------------|---------------------------------------|-----|-------------------------|
| | 0 | 0,5 | 1 |
| Age | ≥70 | <70 | NA |
| Indice de Karnosky | <70 | 80 | 90-100 |
| Métastases extra-crâniennes | Présentes | NA | Absentes |
| Métastases cérébrales (nombres) | >4 | 1-4 | NA |
| Statut génétique | EGFR et ALK négatifs ou inconnus | NA | EGFR et/ou ALK présents |

Abréviations : GPA, graded prognostic assessment ; NA, non applicable

^a Survie globale en mois :

Adénocarcinome 0-1 :6,9 /1,5-2 :13,7/2,5-3 :26,5/3,5-4 :46,8

Hors adénocarcinome 0-1 :5,3 /1,5-2 :9,8/2,5-3 :12,8

Le score pronostic appelé Lung-molGPA a permis de définir plus finement les groupes de patients bénéficiant d'un meilleur pronostic (plus de 4 ans de médiane de survie pour le groupe Lung-molGPA de 3,5 à 4) [10]. Néanmoins, de nombreux efforts restent à accomplir afin de mieux stratifier ces patients et d'établir des essais cliniques moins hétérogènes permettant de guider les décisions thérapeutiques selon le type de population cible.

2. Traitement des MC des CBNPC hors immunothérapie

2.1. Prise en charge neurochirurgicale

La chirurgie des métastases cérébrales uniques a démontré une amélioration de la survie globale en complément d'une radiothérapie cérébrale *in-toto* (RCIT) chez des patients en bon état général, présentant une maladie extra-cérébrale bien contrôlée [11, 12]. La multiplicité des MC ne constitue pas une contre-indication à la chirurgie cérébrale en particulier si la localisation des MC est menaçante ou si le patient est symptomatique dans le cadre d'une maladie systémique bien contrôlée [11]. Néanmoins, les avantages d'un traitement neurochirurgicale d'une lésion dominante chez un patient présentant des MC diffuses doivent encore être démontrés. Dans le cadre d'un traitement local il sera proposé une intervention neurochirurgicale ou une radiothérapie en condition stéréotaxique (RST) si

elles sont techniquement possibles. L'efficacité entre ces deux techniques est comparable. Qin et al. retrouvaient dans une méta-analyse de 18 études et 713 patients une survie globale de 12,7 mois dans le groupe traité par chirurgie contre 14,9 mois pour le groupe traité par RST [13]. En résumé, un traitement chirurgical sera privilégié selon la localisation de la lésion, son caractère unique, les symptômes présentés par le patient et selon le contrôle de la maladie systémique.

2.2. Radiothérapie

Lorsque les MC ne sont pas accessibles à un traitement local et en l'absence de traitement systémique, la médiane de survie globale des patients est de 2 mois [14]. Le traitement des MC des CBNPC est multimodal et n'apporte qu'un gain modeste de survie globale: de 4 à 9 mois pour la chimiothérapie hors situation d'addictions oncogéniques, de 7 mois pour les patients recevant une RCIT et de 4 à 10 mois selon l'histologie retrouvée [5, 14]. La RCIT était le seul traitement de référence non chirurgical disponible pendant de nombreuses années. Les études retrouvaient chez les bons répondeurs à la RCIT une amélioration modeste de la qualité de vie et de la symptomatologie sans bénéfice sur la survie globale [15, 16]. La survie globale était améliorée avec l'association d'un complément de dose par RST à distance de la RCIT chez les patients ayant moins de trois MC et un score GPA de plus de 3,5 [17]. Chez les patients plus fragiles, Mulvenna et al. observaient une amélioration clinique très modeste de 4,7 jours QALY (indicateur QALY visant à pondérer une action thérapeutique sur la survie et la qualité de vie) dans le groupe RCIT et soins de support comparé au groupe traité par des soins de support seuls. Il n'existait pas d'amélioration de la survie globale, de la qualité de vie et de la consommation de corticostéroïdes [18]. Par conséquent, la RCIT semble profiter à une population sélectionnée (âge <60 ans, en bon état général avec une maladie systémique contrôlée) en l'absence d'autres alternatives [16]. Les techniques de RST ont permis d'améliorer le contrôle local de la maladie en augmentant l'intensité du gradient d'irradiation sur la lésion cérébrale. Le nombre de MC

traitées par RST est actuellement limité à cinq pour une taille maximale de 3,5 cm et pourrait être étendu à 10 lésions avec les nouvelles techniques de RST radio-chirurgicales [15, 19]. La RCIT en complément d'une RST n'est pour le moment pas recommandée suite à une augmentation de la neurotoxicité à distance malgré une réduction des récurrences cérébrales [20–23]. Les complications liées à la radiothérapie cérébrale peuvent être graves et impacter directement la qualité de vie des patients. Une revue systématique de la littérature publiée par Peters et al. recherchaient l'impact de la radiothérapie sur la qualité de vie des patients. Il était observé chez les patients traités par RCIT seule une augmentation de la fatigue, de la somnolence et une baisse de l'appétit. Les patients traités par RST présentaient plus de fatigue physique et émotionnelle, ainsi qu'une somnolence, un prurit et une dysfonction vésicale [24]. Bezjak et al. observaient des symptômes plus nombreux et une dégradation de la qualité de vie à un mois [25]. A long terme les complications attendues peuvent être très invalidantes en conduisant à une radionécrose et un déclin des fonctions cognitives [26].

2.3. Traitement médicamenteux

Sur le plan médical, la place des traitements systémiques hors situation d'addictions oncogéniques apportent un gain en survie globale modeste et sont associés à des complications importantes notamment chez des patients fragiles ou âgés [27]. La chimiothérapie en association à une RCIT face à une RCIT seule n'a pas démontré d'amélioration de la survie globale (SG), de la survie sans progression (SSP) et du risque de progression neurologique [28]. Le délai de la réalisation d'une RCIT face à une progression neurologique chez un patient traité par chimiothérapie n'impacte pas la SSP, le taux de réponse cérébrale ou la SG [29].

La faible efficacité des traitements systémiques peut être expliquée en partie par la barrière hémato-encéphalique (BHE) qui sépare le cerveau des autres organes en offrant une barrière sélective entre la circulation systémique et le tissu cérébral. La BHE limite la pénétration de nombreux agents

thérapeutiques systémiques dans le système nerveux central (SNC) et diminue leur concentration dans le SNC, expliquant leur moindre efficacité. On estime que la BHE bloque le transport de près de 98% des molécules, ce qui représente un défi majeur pour le traitement des tumeurs cérébrales [30]. Les MC sont à l'origine d'une perte d'intégrité de la BHE pouvant expliquer que certaines molécules ne traversant pas naturellement la BHE aient démontré leur efficacité sur les MC [31–34]. C'est notamment le cas des anticorps monoclonaux ciblant les mécanismes de néo-angiogénèse tel que le bevacizumab et les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) ciblant les mutations activatrices de l'*EGFR* et les réarrangements *ALK*. Sandler et al. retrouvaient un allongement de la SG chez les patients présentant un CBNPC indemne de MC traité par une combinaison de bevacizumab et d'un doublet de chimiothérapie [35]. Besse et al. confirmaient ces données chez des patients atteints de MC et observaient sur les lésions intracrâniennes un taux de réponse de 62% [36]. Chez les patients présentant une mutation activatrice de l'*EGFR* il était retrouvé une réponse cérébrale de 85% et de 35% après traitement par des ITK de première et deuxième génération [37, 38]. L'étude Flaura objectivait une meilleure efficacité de l'osimertinib (ITK de troisième génération) en première ligne chez des patients mutés pour l'*EGFR* face à un ITK de première génération. La réponse intracérébrale était supérieure dans le groupe traité par osimertinib (91% vs 68%). On observait une augmentation de la SSP et du délai d'apparition des MC face au traitement standard [39]. Chez les patients présentant un réarrangement *ALK*, les ITK ont permis d'améliorer la survie globale (médiane à 49,5 mois) y compris après l'apparition de MC [40]. L'efficacité des ITK au niveau cérébral, a été démontré pour le ceritinib et l'alectinib [41, 42]. Le Ceritinib a démontré son efficacité au niveau cérébral face à une chimiothérapie en première intention. Le taux de réponse cérébrale était plus important (73% vs 27%) et la durée de réponse cérébrale était prolongée à 16,6 mois [41]. Les données de l'étude ALEX évaluant l'efficacité de l'alectinib en première intention contre le crizotinib (anti-*ALK* de première génération) démontrait une augmentation du taux de réponse intracérébral (81% vs 50%) et une protection cérébrale liée à un délai d'apparition des MC plus important [42].

3. Immunothérapie dans les CBNPC

La résistance à la destruction du système immunitaire constitue une des nouvelles caractéristiques émergentes du cancer [43]. Le système immunitaire joue un rôle important dans la reconnaissance et l'élimination de la tumeur [44]. Les cellules tumorales peuvent échapper à leur destruction par l'activation et la production de protéines membranaires se liant aux lymphocytes T et favorisant leur auto-tolérance. Le couple Programmed cell death-1 (PD-1) et de son ligand PD-L1 est un des points de contrôle majeur de l'immunité et le plus pertinent sur le plan clinique. Il est la cible de très nombreuses molécules validées ou en cours d'évaluation dans les CBNPC [45].

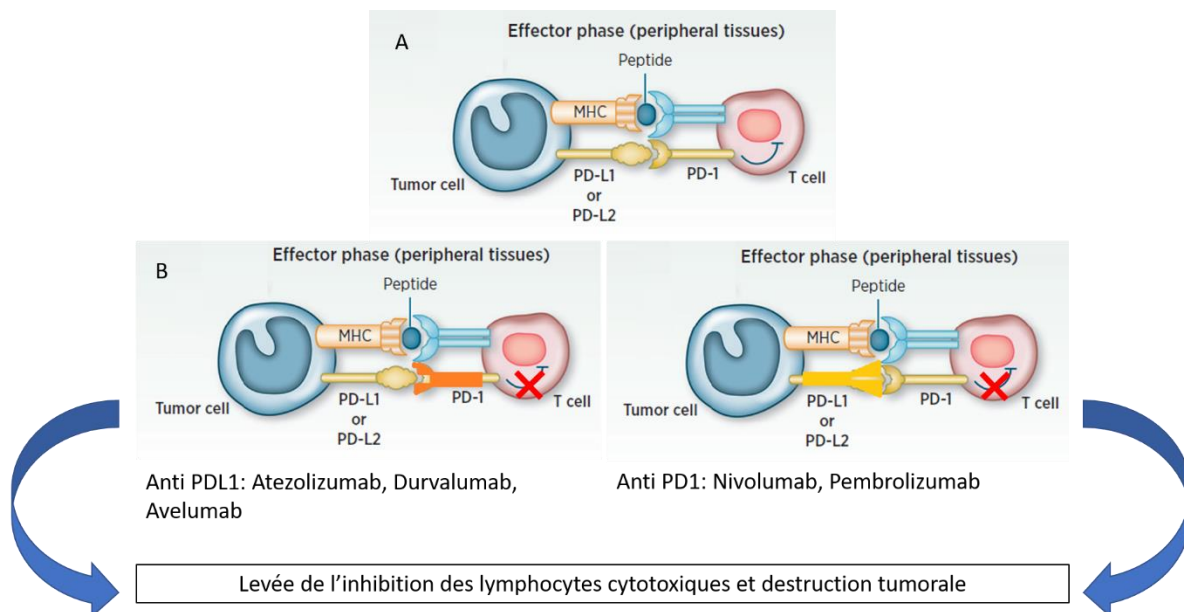


Figure 1 : Mécanisme d'action des anticorps monoclonaux contre PD-L1/PD-1 adapté de Anagnostou et Brahmer [46]. A/ PD-1 exprimée sur les cellules T activées se lie à PD-L1 et PD-L2 inhibant ainsi l'activation des cellules T cytotoxiques dans les tissus périphériques après la réponse inflammatoire via le recrutement de phosphatase inhibitrice SHP-2 et la diminution de l'expression de la protéine anti-apoptotique BCL-XL et inhibant PI3K/AKT. B/ Les anticorps monoclonaux vont cibler le couple PD-1-PD-L1 permettant ainsi de rétablir un recrutement lymphocytaire accru et le rétablissement de la réponse antitumorale.

3.1. Principaux biomarqueurs de l'efficacité de l'immunothérapie.

L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales évaluée par immunohistochimie (IHC) est devenue le principal biomarqueur de la réponse à l'immunothérapie [47, 48]. La mise en évidence de lymphocyte infiltrant la tumeur (LIT) et de son rôle pronostic dans les CBNPC a conduit à établir une classification des cancers combinant l'expression de PD-L1 et du LIT [49]. La classification de Teng et al. est constituée par 4 catégories et résumée dans la figure 2.

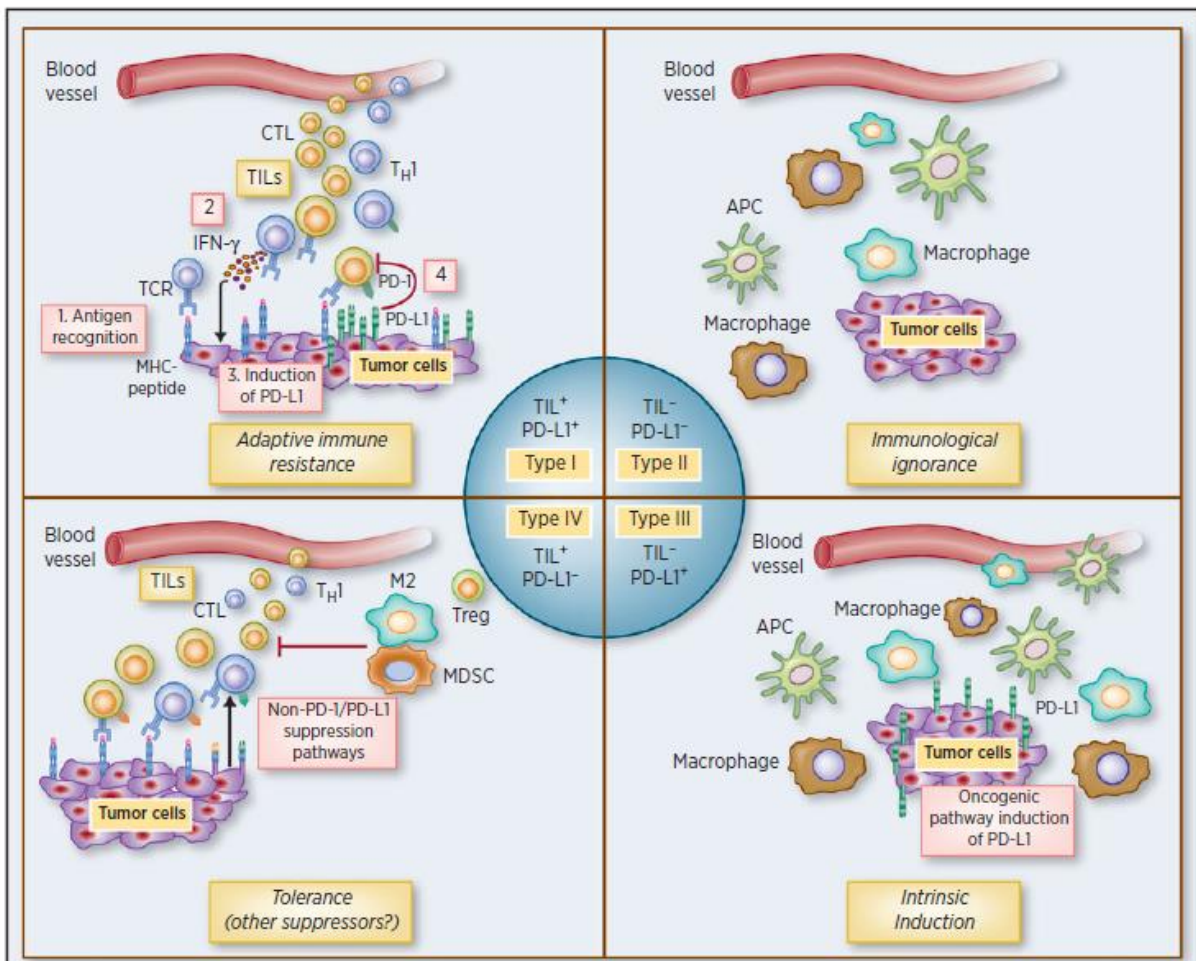


Figure 2: Classification de Teng et al. [50], basée sur l'infiltration tumorale par les lymphocytes et par l'expression de PD-L1. La classification est répartie en quatre catégories, résistance immunitaire adaptative, ignorance immunitaire, tolérance et induction intrinsèque. APC: Antigen-Presenting Cell, M2: M2 macrophage, TH1: Lymphocyte T helper 1. MDSC : Myeloid-Derived Suppressor Cell.

Les tumeurs de type I exprimant fortement PD-L1 et richement infiltrées en lymphocytes cytotoxiques sont les meilleures candidates aux anti-PD-(L)1. Néanmoins 9 % des tumeurs qui n'expriment pas

PD-L1 vont pouvoir répondre aux anti-PD-1 impliquant la recherche de nouveaux biomarqueurs [51]. La charge mutationnelle tumorale (CM) semble être un autre biomarqueur prometteur pour prédire l'efficacité de l'immunothérapie [52]. Elle est définie par le rapport du nombre de mutations codantes non synonymes par mégabase. Le carcinome bronchique non à petites cellules est un des types tumoraux dont la CM est la plus élevée [53]. Tous types tumoraux confondus, il existe une corrélation directe entre le niveau de la CM et le taux de réponse aux anti-PD-(L)1[54]. D'autres biomarqueurs sont en cours d'exploration et de validation et ont fait l'objet d'une revue récente de la littérature [55].

3.2. Immunothérapie, traitement de référence des CBNPC de stade IV

Les inhibiteurs de PD-1 et PD-L1 ont changé le paradigme des traitements des CBNPC métastatiques sans addiction oncogénique. Les premiers essais ont démontré l'efficacité du nivolumab (anti-PD-1) en deuxième ligne chez des patients présentant un carcinome épidermoïde ou un adénocarcinome face au docetaxel. Il existait une augmentation de la SG dans les groupes traités par nivolumab. Les patients n'étaient pas sélectionnés selon l'expression tumorale de PD-L1. La médiane de SG était de 9,2 vs 6,0 mois pour les carcinomes épidermoïdes et de 12,2 vs 9,4 mois pour les adénocarcinomes [56, 57]. Le pembrolizumab (anti-PD-1) a également démontré son efficacité chez des patients ayant déjà reçu une première ligne de chimiothérapie et pour lesquels la tumeur devait exprimer PD-L1 \geq 1%. L'étude était positive pour le critère de jugement principal avec une augmentation de la médiane de SG de 12,7 mois vs 8,5 mois pour le groupe docetaxel. L'effet bénéfique de l'immunothérapie était majoré dans la population pour laquelle l'expression de PD-L1 était supérieure à 50% avec une médiane de SG de 17,3 mois [58]. L'étude OAK évaluait l'efficacité de l'atezolizumab (anti-PD-L1) chez des patients présentant un CBNPC traité par une première ligne sans sélection de statut de PD-L1. L'expression de PD-L1 était stratifiée initialement selon trois catégories. La médiane de SG était plus longue dans le groupe atezolizumab 13,8 mois contre 9,6 mois dans le groupe docetaxel. Tous les groupes tiraient bénéfice de l'immunothérapie y compris les patients dont les tumeurs n'exprimaient

pas PD-L1 [59]. Le développement de l'IHC de l'expression de PD-L1 sur la tumeur a été développée comme biomarqueur prédictif afin d'enrichir la population traitée en patients susceptibles de présenter un bénéfice clinique important car il existe une relation linéaire entre l'expression de PD-L1 et la réponse à l'immunothérapie [47, 48]. L'essai de phase 3 Keynote 024, incluait des patients présentant un CBNPC naïf de tout traitement dont les tumeurs exprimaient un taux de PD-L1 supérieur à 50%. Les patients étaient randomisés entre un bras contenant du pembrolizumab et un bras standard de chimiothérapie par un doublet à base de sels de platine. Cette étude retrouvait une diminution significative du risque de décès (HR = 0.53, IC 95% : 0.33–0.86, p = 0.0049) avec une médiane de SG de 30 mois dans le bras pembrolizumab contre 14 mois dans le bras chimiothérapie et validait l'autorisation de mise sur le marché en première ligne du pembrolizumab dans cette indication [60]. La mise en évidence d'une amélioration de la SG chez les patients traités par une combinaison de chimiothérapie et d'immunothérapie pourraient très prochainement modifier l'algorithme de prise en charge de la première ligne de traitement des CBNPC métastatiques [61, 62]

3.3. Exclusion des patients présentant des MC dans les premiers essais cliniques

Les premiers essais cliniques ciblant l'efficacité de l'immunothérapie dans les CBNPC métastatiques incluait rarement les patients présentant des MC (Tableau 2). En effet, Mc Coach et al. retrouvaient en 2015 dans une méta-analyse de plus de 413 études dont 41 centrées sur l'immunothérapie seulement 5/41 études autorisant la présence d'une MC sans traitement spécifique. Les études autorisant les patients atteints de MC devaient avoir été traités antérieurement (chirurgie ou radiothérapie) ou devaient présenter une lésion non symptomatique (Tableau 2). Les essais testant une immunothérapie, sponsorisées par l'industrie et les essais de phases 3 excluaient plus fréquemment les patients présentant des MC [63]. Les patients qui présentaient ou avaient présenté une atteinte léptoméningée étaient également très fréquemment exclus [63]. Plusieurs causes peuvent être avancées pour expliquer ces exclusions ; L'usage de corticoïdes est très fréquent en cas de MC,

principalement pour contrôler l'œdème cérébral. Or, l'usage des corticoïdes est associé à une diminution de l'efficacité de l'immunothérapie. Harbour et al. retrouvaient une diminution du taux de réponse globale, de la SSP et de la SG à partir de 10 mg équivalent de prednisone [64]. De plus, l'évaluation de l'efficacité de l'immunothérapie sur les MC peut être délicate après une RST du fait des risques de radionécrose pouvant masquer ou mimer une progression tumorale [26, 65]. La combinaison d'immunothérapie et de RST serait même associée à un surcroît de radionécrose cérébrale [66]. Le risque de pseudo-progression, définie comme une augmentation transitoire de la taille des lésions tumorales existantes ou l'apparition de nouvelles lésions, est néanmoins réel et peut complexifier la validation de la poursuite du traitement [67, 68]. La validation de l'efficacité de l'immunothérapie chez les patients présentant des MC doit nécessiter des critères objectifs et consensuels [69]. Dans ce sens, le groupe de travail RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology) publiait un guide des bonnes pratiques concernant la réalisation d'études en neuro-oncologie. Le but est de limiter les biais (recrutement, de mesure, de publication), de faciliter l'inclusion des patients présentant des MC dans les essais cliniques futurs et d'améliorer leur conception, leur design et leurs critères d'évaluation [65, 70].

Tableau 2 : Principales études prospectives d'immunothérapie

| Etude | Phase | Statut PD-L1 | Ligne | Drogues | Type histologique | Inclusion MC | Statut MC | Analyse sous-groupe planifié dans le protocole | Nb MC inclus (%) par groupe | Réponse PMC vs PSMC |
|---------------------------|-------|--------------|-------------|--|-------------------|--------------|--|--|-----------------------------|--|
| Première ligne | | | | | | | | | | |
| Monothérapie | | | | | | | | | | |
| <i>Keynote 024</i> [60] | III | >50% | 1 | Pembrolizumab 200mg Doublet de platine | CBNPC | Oui | Traitées | Oui | 18(12)/154 10(7)/151 | HR 0,73 (0.20-2.62) 0.64 (0.46-0.88) |
| <i>Keynote 042</i> [71] | III | >1% | 1 | Pembrolizumab 200mg Doublet de platine | CBNPC | Oui | Asymptomatiques et/ou traitées | Non | 77(12)/637 74(12)/637 | NR |
| <i>Checkmate 026</i> [52] | III | >1% et >5% | 1 | Nivolumab 3mg/Kg Doublet de platine | Non épidermoïde | Oui | Traitées ou asymptomatique >2 semaines avant randomisation | Non | 33(12)/271 36(13)/270 | NR |
| Combinaison | | | | | | | | | | |
| <i>Keynote 021</i> [72] | II | Tous | 1 (phase 2) | Pembrolizumab 200mg + carboplatine/pemetrexed Doublet de platine | Non épidermoïde | Oui | Traitées | Non | NR | NR |
| <i>Keynote 189</i> [62] | III | Tous | 1 | Pembrolizumab 200mg + platine/pemetrexed Platine/pemetrexed | Non épidermoïde | Oui | Non symptomatiques | Oui | 73 (18)/410 35 (17)/206 | SG 0.36 (0.20-0.62) 0.53 (0.39-0.71) 0.42 (0.26-0.68) 0.53 (0.43-0.67) |
| <i>Keynote 407</i> [61] | III | Tous | 1 | Pembrolizumab 200mg + platine/placli taxel Platine/placli taxel | Epidermoïde | Oui | Non symptomatiques | Non | 20 (7) /278 24 (9)/281 | NR |

| | | | | | | | | | | |
|---------------------------|-----|--|-----------|--|-----------------|-----|---|-----|------------------------------------|---|
| <i>Checkmate 227</i> [73] | III | >1% et <1% puis randomisés en deux groupes | 1 | Nivolumab 3mg/kg + Ipilimumab 1mg/kg Nivolumab seul Doublet de platine | CBNPC | Oui | Traitées et asymptomatiques >2 semaines avant randomisation | Non | NR | NR |
| <i>IMpower 130</i> [74] | III | Tous | 1 | Atezolizumab 1200mg + platine/nabplaclitaxel Platine/nabplaclitaxel | Non épidermoïde | Oui | Non symptomatiques et traitées | Non | NR | NR |
| <i>IMpower 131</i> [75] | III | Tous | 1 | Atezolizumab 1200mg + platine/nabplaclitaxel Platine/nabplaclitaxel | Epidermoïde | Oui | Non symptomatiques et traitées | Non | NR | NR |
| <i>IMpower 132</i> [76] | III | Tous | 1 | Atezolizumab 1200mg + Carboplatin ou Cisplatine + Pemetrexed Carboplatin ou Cisplatine + Pemetrexed | Non épidermoïde | Oui | Non symptomatiques et traitées | Non | NR | NR |
| <i>IMpower 150</i> [77] | III | Tous | 1 | Atezolizumab 1200mg + Bevacizumab + Carboplatin + Placlitaxel Atezolizumab 1200mg + Carboplatin + Placlitaxel | Non épidermoïde | Oui | Traitées | Non | NR | NR |
| Deuxième ligne | | | | | | | | | | |
| <i>Checkmate 017</i> [57] | III | Tous | 2 | Nivolumab Docetaxel | Epidermoïde | Oui | Stable et traitées | Non | 9 (7) /131 8 (6) /129 | NR |
| <i>Checkmate 057</i> [56] | III | Tous | 2 et plus | Nivolumab Docetaxel | Non épidermoïde | Oui | Stable et traitées | Non | NR | NR |
| <i>Keynote 010</i> [58] | III | >1% | 2 et plus | Pembrolizumab Docetaxel | CBNPC | Oui | Stable et traitées | Non | 104 (10) / 1034 48 (5) /1034 | NR |
| <i>OAK</i> [59] | III | Tous | 2 et plus | Atezolizumab Docetaxel | CBNPC | Oui | Stable et traitées | Non | 85 (10) /765 | SG 20,1 vs 13,0 HR 13,0 vs 9,4 0,54 [0,31-0,94] 0,75 [0,63-0,89] |

MC : métastases cérébrales ; *CBNPC* : carcinome bronchique non à petites cellules ; *PMC* : patients ayant des métastases cérébrales ; *PSMC* : patients sans métastases cérébrales ; *HR* : hazard ratio ; *SG* : survie globale ; *SSP* : survie sans progression ; *NR* : non renseigné

4. Efficacité de l'immunothérapie dans les MC

4.1. Rationnel de l'utilisation de l'immunothérapie dans les métastases cérébrales.

Le micro-environnement (MET) des MC contient de nombreuses cellules en dehors des cellules cancéreuses ; incluant les cellules endothéliales, les péricytes, les fibroblastes, les cellules de l'immunité. La composition de la matrice extracellulaire est également différente des autres organes. Le MET est caractérisé par la coexistence de plusieurs types cellulaires ultra spécialisés telles que les cellules résidentes (microglie, astrocyte et neurone) et la présence de la BHE [30]. Les cellules lymphoïdes sont composées de Lymphocytes T, de Lymphocytes B et de Lymphocytes natural killer. Le SNC est considéré comme un « désert immunitaire » (immune desert), possédant peu ou pas de système de drainage lymphatique. Des études récentes remettent en cause ce dogme, révélant la présence en abondance de lymphocytes T mémoires centraux au sein du liquide céphalorachidien, base cellulaire de la surveillance immunitaire aux niveaux des méninges [78, 79]. L'observation d'une circulation de cellules cancéreuses et de lymphocytes du cerveau vers les ganglions cervicaux suggère qu'il pourrait exister une voie de drainage « cérébro-systémique » potentiellement favorisée dans les MC par la perte d'intégrité de la BHE [31–33, 80, 81]. Szekely et al. comparaient le MET de 17 métastases de cancer de sein et 31 lésions primitives. Les données retrouvaient une baisse globale de toutes les composantes de l'immunité dans les métastases en comparaison aux tumeurs primitives. Chose intéressante, il existait la persistance et l'augmentation des voies de régulation conduisant à une immunosuppression locale au sein des métastases et une déplétion du système d'activation du complément. Par ailleurs, les auteurs retrouvaient dans les métastases la présence d'autres cibles de l'immunothérapie sauvegardées ; certaines chemokines, les molécules de signalisation STAT-3,-6, JAK2, et de régulation TIM3 and LAG3 [82]. Très récemment, une équipe américaine retrouvait des données similaires. Kudo et al. comparaient les MET de MC aux tumeurs primitives de CBNPC. Il existait une baisse de la molécule d'adhésion pro-inflammatoire VCAP1 dans les MC. De plus, il était observé une diminution de l'infiltration des lymphocytes T et une augmentation des cellules dérivées

de la moelle (CDM) dans les MC suggérant une immunosuppression locale et un environnement peu propice aux anti-PD-(L)1 [83]. Berghoff et al. observaient sur 61 coupes histologiques de MC issues de tumeurs pulmonaires la présence dans 26% des cas d'une expression de PD-L1 à plus de 5% [84]. Dans plus de 50% des cas il existait un LIT de type lymphocytes T mémoires (CD3+, CD8+ et CD45RO+) [84]. Les lymphocytes T mémoires sont déjà sensibilisés à un antigène dans les organes lymphoïdes secondaires et réagissent plus rapidement et avec une plus grande efficacité à une stimulation antigénique comparé à une population lymphocytaire T naïf [85]. L'infiltration lymphocytaire était localisée en bordure de la tumeur au niveau de la zone d'œdème péri-lésionnelle indiquant une migration lymphocytaire de la circulation systémique vers les MC [84]. La présence d'une densité élevée de CD3+ (15 vs. 6 mois ; $p = 0.015$), CD8+ (15 vs. 11 mois ; $p = 0.030$) et de CD45RO+ (18 vs. 8 mois ; $p = 0.006$) était corrélée à une meilleure survie. Il n'existait pas de corrélation entre l'expression de PD-L1 et la présence de LIT [84]. Mansfield et son équipe retrouvaient également une discordance entre PD-L1 et les LIT dans 26% des 76 couples de métastases cérébrales/tumeurs pulmonaires analysés. La plupart des lésions jumelées pour lesquelles il existait une discordance sur le statut PD-L1 étaient obtenues après un intervalle de plus de 6 mois. Les tumeurs de type I (PD-L1+/LIT+) étaient statistiquement plus importantes dans les lésions primitives que dans les MC ($n = 35$, 24%, IC 95% [18%-32%] ; $p = 0.009$) indiquant un appauvrissement immunologique des MC. Néanmoins, l'infiltration lymphocytaire et l'expression de PD-L1 retrouvées dans 23 paires de MC et de tumeurs primitives sont des éléments importants pouvant prédire une efficacité simultanée des anti-PD-(L)1 au niveau des deux sites [86].

4.2. Efficacité de l'immunothérapie en monothérapie dans les métastases cérébrales

Une petite étude rétrospective de 5 patients présentant un CBNPC et/ou une atteinte léptoméningée non symptomatique et non traitée par corticothérapie suggérait une efficacité intracérébrale et

léptoméningée du nivolumab [87]. Chez 38 patients italiens, 47.3 % d'entre eux avaient un contrôle de leur maladie au niveau cérébral avec une bonne tolérance globale [88]. Le contrôle de la maladie en intra-ou extra crânien était identique chez 43 patients français présentant des MC prétraitées (79%) et actives (37%) [89]. Une étude récente, évaluait l'efficacité de l'immunothérapie seule chez 255 patients présentant des MC actives (39%), symptomatiques (14%) et traitées par corticothérapie (27%). Le taux de réponse à l'immunothérapie était identique dans le groupe présentant des MC (PMC) (20,6%) vs patients sans MC (PSMC) 22,7%, $p=0,484$). Le taux de réponse intracrânien était de 27,3%. La SSP était de 1,7 mois (PMC) contre 2,1 mois (PSMC). La médiane de SG était plus faible dans le groupe PMC (8,1 mois) que dans le groupe PSMC (11,4 mois, $p= 0,035$). Une meilleure SG était corrélée à un niveau élevé du score GPA. Inversement, il existait une baisse de la SG chez les patients traités par corticoïdes [90].

Peu de données issues d'études prospectives sont disponibles sur l'efficacité de l'immunothérapie dans les MC (Tableau 2). Toutes les études n'ont inclus que des patients ayant des MC asymptomatiques ou traitées. L'effectif des patients ayant des MC inclus dans ces études est faible (entre 6 et 18% de la population totale de l'étude) et ne reflète pas la population réelle. Aucune de ces études n'ont stratifié la randomisation sur la présence de MC ni d'analyse statistique par sous-groupe dédié. Une seule étude de phase II, évaluant l'efficacité du pembrolizumab retrouvait chez 6/18 (33%) patients présentant des MC non traitées de CBNPC une réponse intra-cérébrale et des effets secondaires de grade 3 ou 4 rares (6%) [91]. Deux analyses de sous-groupe étaient disponibles dans l'étude Keynote-024 (pembrolizumab en première ligne contre une chimiothérapie) et l'étude OAK. Il était observé un bénéfice de survie dans l'étude OAK ; HR(PMC) ; 0,54 [0,31-0,94] non confirmé dans l'étude Keynote-024 ; HR(PMC) ; 0,73[0.20-2.62] du fait probablement d'un effectif plus réduit [59, 92].

4.3. Intérêt de l'utilisation de la chimiothérapie et de la radiothérapie en combinaison avec l'immunothérapie.

La chimiothérapie ainsi que la radiothérapie n'ont pas le même site d'action et peuvent être synergiques avec une immunothérapie. Elles entraînent une mort cellulaire qui peut être immunogène conduisant à la maturation des cellules dendritiques et l'activation des cellules lymphocytaires (Figure 4) [93, 94].

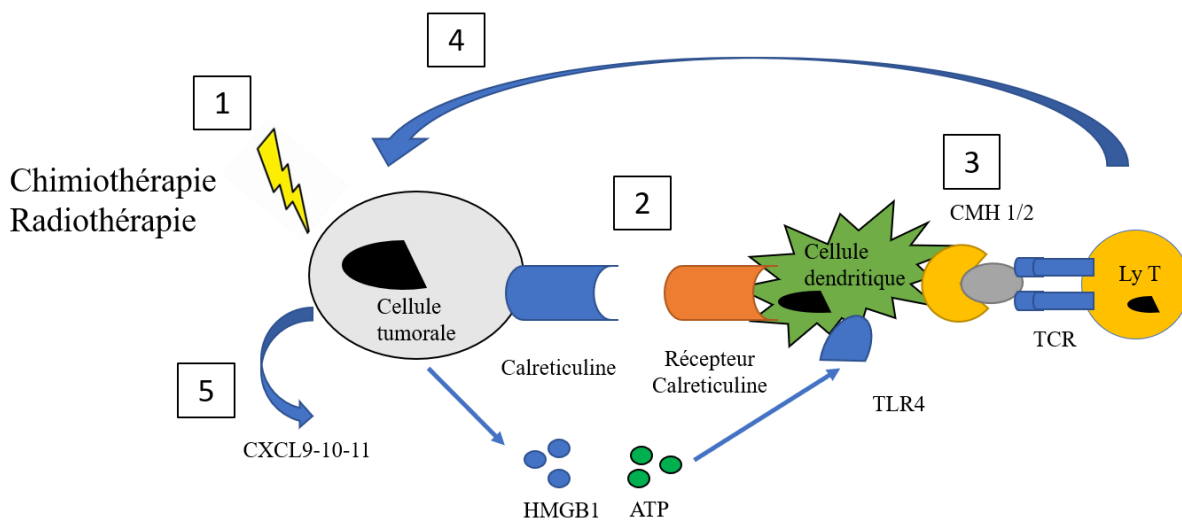


Figure 3 : Vision schématique de l'impact de la mort cellulaire induite par la radiothérapie ou la chimiothérapie sur le cycle de l'immunité antitumorale. 1/ Agent cytotoxique entraînant la lyse cellulaire, 2/ libération de HMGB1, ATP et Calréticuline permettant la maturation et le recrutement des cellules dendritiques. 3/ Présentation des antigènes tumoraux par les cellules dendritiques aux lymphocytes T (LyT) cytotoxiques naïfs. 5/ Les lymphocytes T activés vont se diriger vers le site tumoral et l'amplification de la réaction immunitaire va se faire par l'intermédiaire de production de chimiokines de type CXCL9-10-11.

De manière concomitante, les radiations vont permettre de libérer de nouveaux antigènes contenus initialement dans la cellule. Ils vont être présentés aux lymphocytes cytotoxiques par l'intermédiaire des complexes d'histocompatibilité de type 1 et conduire à la libération d'interferon-gamma (IFN- γ) [95, 96]. La libération massive d'agents immunogènes post-irradiation sur les lésions volumineuses permettrait d'augmenter la réaction immunitaire et son amplification par l'action de l'immunothérapie. La chimiothérapie va pouvoir également modifier le MET en induisant une diminution des cellules immunosuppressives telles que les CDM ou les lymphocytes T régulatrices au profit des cellules T

cytotoxiques [93, 94]. Les CDM sont au niveau cérébral des cibles importantes puisqu'elles sont impliquées dans le mécanisme d'angiogenèse et de résistances aux thérapeutiques anti-angiogéniques. De plus, les CDM contribuent à la colonisation et à la croissance impliquée dans le processus métastatique [30]. L'administration d'agents cytotoxiques et de radiothérapie permettrait de convertir une tumeur immunologiquement « froide » (peu infiltrée par les lymphocytes T cytotoxiques) en une tumeur « chaude » via des mécanismes pro-inflammatoires et par le déclenchement d'une réaction immunitaire, amplifiée par un anti-PD-1 ou PD-L1 (figure 6).

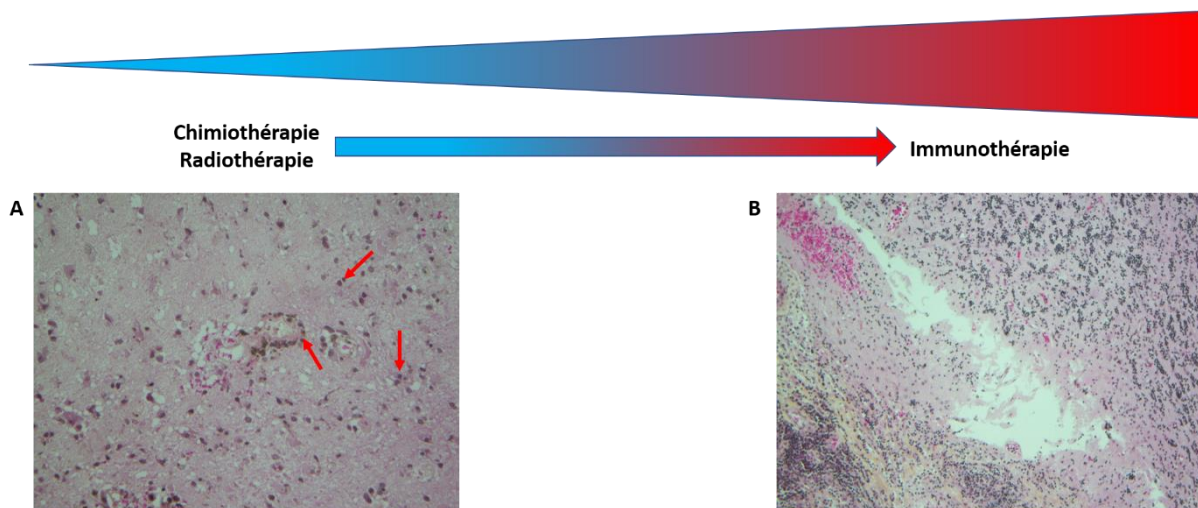


Figure 4 : Evolution schématique après administration de chimiothérapie et/ou de radiothérapie dans le temps d'une tumeur immunologiquement « froide » (A) et peu infiltrée par les lymphocytes T (flèche rouge) en tumeur « chaude » (B), très inflammatoire dont la réaction immunitaire peut être amplifiée par l'action de l'immunothérapie.

4.4. Efficacité des combinaisons de l'immunothérapie et de la radio/chimiothérapie dans les métastases cérébrales

Les données d'efficacité ont été bien démontrées pour les associations immuno- chimiothérapies dans les CBNPC métastatiques [62]. Le bénéfice d'une immunothérapie post-irradiation thoracique a démontré une amélioration de la SG dans les CBPNC de stade III traités par radio-chimiothérapie concomitant [97]. Les seules données à notre disposition concernant les études de phase III sont celles

de l'étude Keynote 189 (Tableau 2). Cet essai évaluait en première ligne la combinaison du pembrolizumab associé à une chimiothérapie contre une chimiothérapie seule. Il existait une amélioration de la survie globale et de la survie sans progression en faveur du bras immunothérapie-chimiothérapie. Il existait un bénéfice plus marqué à la fois sur la survie globale dans le groupe PMC, HR ; 0.36 [0.20–0.62] contre HR ; 0.53 [0.39–0.71] dans le groupe PSMC, mais également sur la SSP, HR(PMC) ; 0.42 [0.26–0.68] contre HR(PSMC) ; 0.53 [0.43–0.67] [62]. Au niveau des MC l'association d'une radiothérapie à une immunothérapie a démontré une efficacité en pré-clinique chez la souris et dans les mélanomes métastatiques au niveau cérébral [98–100]. Une étude très récente, rétrospective, étudiait le bénéfice d'une immunothérapie concomitante à une RST chez 85 patients présentant des MC de CBNPC. Il n'existait pas de bénéfice sur la diminution des lésions entre les deux groupes. Néanmoins, il était observé une fonte plus importante des lésions cérébrales de plus de 500mm³ dans le groupe immunothérapie et une diminution du temps de réponse. Contrairement aux études réalisées dans le mélanome, il n'existait pas d'amélioration sur la survie [101]. Une étude rétrospective américaine identifiait 51 patients (CBNPC, carcinome bronchique à petites cellules, mélanome, carcinome épidermoïde de la tête et du cou) présentant des MC dont 30 avaient des MC symptomatiques. Ils étaient traités soit par nivolumab, pembrolizumab, durvalumab, atezolizumab, ipilimumab ou par une combinaison d'immunothérapie. Ils pouvaient bénéficier d'une irradiation complémentaire. La médiane de SG était dans le groupe CBNPC de 7,2 mois. Il était retrouvé une baisse de la SG chez les patients traités par une immunothérapie seule versus une combinaison d'immunothérapie associée à une radiothérapie ou une chirurgie [102]. Aucune étude de phase III n'a pour l'heure été publiée sur le bénéfice d'une association d'immunothérapie à une radiothérapie concomitante dans les MC et les nombreux essais en cours devraient apporter plus de réponses dans les années à venir.

5. Intérêt des approches transcriptomiques dans le cadre de l'immunothérapie et hypothèse de recherche dans les métastases cérébrales.

A l'ère de l'intelligence artificielle et de « l'omique », le développement d'outils numériques perfectionnés ont permis de mieux décrypter le patrimoine génétique des métastases cérébrales et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Une étude préliminaire sur des microsphères de MC identifiait 30 gènes associés statistiquement à une mauvaise survie. Les gènes étaient impliqués dans l'adhésion cellulaire, les réarrangements du cytosquelette, la prolifération cellulaire et de la tumorigenèse [103]. Plus tard, Gentles et al. comparaient l'expression génique de 18000 cancers répartis en 39 types différents pour lesquels les données cliniques de survie étaient disponibles. Les auteurs mettaient en évidence le rôle favorable des gènes impliqués dans la réponse immunitaire sur la survie globale suggérant un rôle clef du micro-environnement immunitaire [49]. La recherche de nouveaux biomarqueurs ciblant le micro-environnement tumoral est devenue indispensable après l'émergence de l'immunothérapie. Plusieurs signatures transcriptomiques ont été associées à une meilleure efficacité des inhibiteurs des points de contrôles immunitaires [104]. Les signatures prédictives comportaient des gènes impliqués dans l'immunité Th1, la présentation de l'antigène et la signalisation de l'IFN- γ [104]. Plus récemment, Ayers et al. mettaient en évidence une signature prédictive composée de profil d'expression de 18 gènes (PEG) dans des tumeurs traitées par du pembrolizumab et pour lesquelles les données de survie étaient disponibles. La signature prédictive PEG était composée de gènes impliqués dans plusieurs voies de signalisation ; IFN- γ , points de contrôles et d'activation lymphocytaires, présentation antigénique et de l'immunité innée [105]. La signature PEG était contrôlée dans une étude prospective sur 475 patients traités par pembrolizumab (20 types de cancer). Il existait une relation entre la SSP et le niveau de PEG ($n=203$, $p=0.017$) [106]. D'autres signatures issues du PEG ont démontré leur efficacité dans la prédiction des anti-PD-(L)1 ; exemple de la *tumor inflammation signature* (TIS) [107]. La signature PEG n'a pas été réalisée sur les MC de CBNPC. Les données transcriptomiques sont principalement issues d'une étude américaine

ayant comparé le MET des MC et des tumeurs pulmonaires primitives mettant en évidence une immunosuppression locale sans pour autant établir de lien avec l'efficacité de l'immunothérapie [83]. Nous faisons l'hypothèse que le microenvironnement tumoral des MC n'est pas favorable à l'efficacité des anti-PD-1/PD-L1 à l'aide de plusieurs signatures génomiques prédictives (PEG, TIS). Notre objectif principal est d'identifier les caractéristiques du microenvironnement tumoral des MC qui diffèrent des tumeurs primitives pulmonaires. Notre objectif secondaire est de corrélérer les caractéristiques du microenvironnement tumoral des MC avec l'efficacité clinique de l'immunothérapie. Nous proposons ici une étude dont l'objectif principal est une analyse comparative du MET de MC et de CBNPC dans le but de fournir un aperçu mécanistique de la réponse à l'immunothérapie et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

Immunological differences between brain metastases and primary lung tumors in metastatic non-small lung cancers: clinical and therapeutic implications

Aurélien Brindel¹, Jonathan Lopez², Pauline Desormaux², Moncef Berhouma³, SuFey Ong⁴, Sarah Warren⁴, Pascale Morel⁴, Simon Aho⁵, Bénédicte Etienne-Mastroianni⁷, Marylise Ginoux⁶, Maurice Pérol⁷, Aurélie Swalduz⁷, Emilie Perrot⁶, Laurence Gérinière⁶, Lionel Falchero⁸, Luc Odier⁸, Lize Kiakouama⁶, Eric Kelkel⁹, Nicolas Feillet¹⁰, Pascal Beynel¹¹, Stéphanie Luciani¹², Pierre Bombaron¹³, Philippe Brun¹⁴, Valérie Grangeon¹⁵, Lydia Petit¹⁶, Sophie Bayle¹⁷, David Meyronet¹⁸, Marie Brevet¹⁸, Michaël Duruisseaux^{6,19*}

Marie Brevet and Michaël Duruisseaux equally contributed to this work

¹ Respiratory department, CHRU Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Biochemistry and Molecular Biology Department, Hospices Civils de Lyon, Pierre-Bénite, France

³ Neurosurgery Department, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

⁴ NanoString Technologies, Seattle, USA

⁵ Medical Oncology Department, Institut de Cancérologie de Lorraine, Vandoeuvre les Nancy, France

⁶ Respiratory Department, Louis Pradel Hospital, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

⁷ Medical Oncology Department, Centre Léon Bérard, Lyon, France

⁸ Respiratory Department, L'Hôpital Nord-Ouest, Villefranche sur Saône, France

⁹ Respiratory Department, Centre Hospitalier de Chambéry, Chambéry, France

¹⁰ Respiratory Department, Centre Hospitalier de Chalon-sur-Saône, Chalon-sur-Saône, France

¹¹ Respiratory Department, Centre Hospitalier de Bourg en Bresse, Bourg en Bresse, France

¹² Respiratory Department, Centre Hospitalier de Bourguoin, Bourguoin Jallieu, France

¹³ Respiratory Department, Hopital privé Jean Mermoz, Lyon, France

¹⁴ Respiratory Department, Centre hospitalier de Valence, Valence, France

¹⁵ Respiratory Department, Centre Hospitalier de Roanne, Roanne, France

¹⁶ Respiratory Department, Centre Hospitalier Alpes-Leman, Contamine sur Avre, France

¹⁷ Respiratory Department, CHU de Sainte Etienne, Saint-Etienne

¹⁸ Cytology and Pathological Anatomy Department, Hospices Civils de Lyon, Bron, France ;

¹⁹ Anticorps Anticancer Lab, Cancer Research Center of Lyon, UMR INSERM 1052 CNRS 5286, Lyon, France

*Corresponding author: Dr. Michaël Duruisseaux

Respiratory Department, Louis Pradel Hospital

Hospices civils de Lyon

59 Boulevard Pinel, 69500 Bron

Tel : +33 472 357 205, e-mail : michael.duruisseaux@chu-lyon.fr

Key word: Immunotherapy / Non small cell lung cancer / CCL21 / Brain metastases/ RAD50

Key message:

Tumor microenvironment of non-small cell lung cancer brain metastases are depleted in immunity cells and immune chemokines compared to primary lung tumors. CCL21 could potentially be a therapeutic target in patients with brain metastases. Tumor infiltrating signature is well correlated with the immunotherapy efficiency, including in brain metastases.

Abstract:

Background: Immune landscape characterization of non-small cell lung cancer (NSCLC) brain metastases (BM) is key for providing mechanistic insights about BM immunotherapy response and to identify new therapeutic targets in BM.

Material and methods: 85 BM and 14 matched lung primary tumors were collected from patients with treatment-naïve NSCLC. RNA was profiled with the NanoString PanCancer IO360 panel (NanoString Technologies, Inc). Genes signatures including the Tumor Inflammation Signature (TIS) were calculated for each sample and compared between BM and lung primary tumors. Clinical response was assessed according to RECIST 1.1.

Results: BM were associated with reduced immune infiltrate than primary lung tumor in unsupervised analysis. BM have lower signature scores for multiple immune cell types, including B cells, mast cells and T cells. Signatures associated with cytotoxicity and *IFN- γ* pathways and the expression of multiple checkpoint (*IDO1*, *CTLA-4*, *PD-L2*, *TIGIT*, *PD-1*) were lower in BM. In paired analysis, CCL21 were chemokine was the most downregulated genes in BM. Immunotherapy was administered to 23 patients; 22 with an anti-PD-1, one patient with a combination for an overall objective response rate of 25% and a median overall survival of 21,2 months to immunotherapy. TIS was correlated to immunotherapy response in BM (AUC=0.824). *RAD50* and *P4HA2* were the most downregulated genes in responders compared to non-responders.

Conclusion: The same immune signatures are associated with response to immunotherapy in BM as in primary tumors, despite an overall reduced immune presence in the BM. CCL21 may represent a novel therapeutic target for NSCLC with BM.

Introduction

Brain metastases (BM) are commonly found at time of diagnosis in non-small cell lung cancer (NSCLC) and is one of the most common organ sites of metastasis. Up to half of all NSCLC patients eventually develop BM during their clinical course [1–3]. The occurrence of BM is associated with poor prognosis, promoting disabling neurologic complications and death in NSCLC patients. This is notably because systemic anticancer therapies might not reach effective concentration in the central nervous system (CNS) due to the blood–brain barrier (BBB) and are less effective than in extra-CNS disease [4]. This “BBB effect” may not matter for immunotherapy that peripherally activates pre-existing anti-tumor lymphocytes that can cross the BBB and infiltrate de CNS [5–7]. As result, anti-PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors represent a potential active systemic treatment in BM. Unfortunately, a majority of prospective trials with immunotherapy exclude NSCLC patients with untreated or treated BM due to the known use of corticosteroids to reduce the effectiveness of immunotherapy and the risk of post-radiotherapy radionecrosis that may imitate tumor progression [8]. Preliminary and real-life studies suggest a clinical benefit with anti-PD-1 in these BM patients [9]. Hendricks et al. found an overall response rate to immunotherapy regardless of BM status [10]. Cerebral microenvironment contains a unique extracellular matrix and a tissue resident including astrocytes, microglia and neurons that differentiate the normal brain to other tissues protected by BBB [11]. BM microenvironment characteristics and immune composition are not well known. There is a positive correlation between survival and tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) in patients with BM [12]. Mansfield et al. suggest that BM exhibit lower TIL and lower PD-L1 expression that the primitive lesions [13]. Kudo et al. found that lower immune infiltration was linked to a decrease in adhesion molecule VCAP1 expression. A decrease in pro-inflammatory chemokines secretion disrupting cytotoxic T-cells trafficking within metastases was described [14]. Beyond this cold cluster of BM, it is important to establish the link between this cerebral particularism and the efficiency of immunotherapy, which has not yet been demonstrated.

In this study, we explore whether the immune microenvironment of BM differs from paired lung primary tumors and whether biomarkers associated with response to immunotherapy can be identified in BM.

Material and methods

Clinical data

We included 85 consecutive patients who undergone NSCLC BM surgery neurosurgery department at Hospices Civils de Lyon (HCL) between 2013 and 2018. The inclusion criteria were patients with histologically proven NSCLC BM and available samples. Patients had to have not received systemic or local treatment other than BM surgery prior to brain or pulmonary biopsies. Epidemiological, clinical, pathological and molecular data were retrospectively collected from informatic medical charts using a case report form. The revised Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1 (RECIST) were used to evaluate NSCLC response to immunotherapy. All participants gave written consent, and we obtained approval by a local independent ethical committee.

Tissue samples.

Eighty-five BM and 14 matched lung primary tumor treatment-naïve biopsies were collected. All samples are formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE). Pathological diagnosis was reviewed by two expert pathologists (MC and DM).

CD8 and PD-L1 immunohistochemistry.

Standard 4- μ m FFPE sections were submitted to immunohistochemical (IHC) analysis using a PD-L1 antibody (QR1 antibody, Diagnostics, Blagnac, France, dilution 1/100 ; Optiview revelation kit) and CD8 antibody (C8/144B, Dako/Agilent, Santa Clara, CA, USA) on a Ventana automated staining platform (Benchmark Ultra, Tucson, AZ, USA). PD-L1 staining was scored using the tumour proportion score (TPS) as previously described [15]. PD-L1 expression was considered as positive if $TPS \geq 1\%$, and as high if $TPS > 50\%$. CD8 stained was characterized as percentage of global

mononuclear inflammatory cells who occupied the tumor stroma area and was considered high if $\geq 10\%$. According to the classification from Teng et al. four groups of BM samples were defined as follow: adaptative immune resistance (AIR) when PD-L1 and CD8 expressions were high, immunological ignorance (ImI) when their expression was null, immunological tolerance (IT) as CD8 high/PD-L1low, intrinsic induction (InI) as CD8 low/PD-L1high [16].

RNA extraction and analysis

RNA was extracted from 3 FFPE 10 μ m-slides using Roche kits (ROCHE-FFPET-025). The expression of 760 immune-related genes was quantified using Nanostring PanCancer IO-360, as recommended by the manufacturer and moderated using 40 housekeeper genes. Data were analysed with nSolver 2.6 software (Nanostring®, Technologies, Inc). As described, 45 gene signatures describing the immune response, tumor biology, and the tumor microenvironment, including the Tumor Inflammation Signature (TIS). An investigational 18-gene signature of a suppressed adaptive immune response that enriches for clinical response to pembrolizumab were calculated for each sample [17].

Statistical analysis

Descriptive statistics were carried out to estimate the frequency of differential PD-L1 and CD8 expression. The Kaplan-Meier method was used for survival analyses. A p-value of <0.05 was considered significant, and statistical analyses were performed using R Version 1.1.456, RStudio (Boston, MA, USA). Differential mRNA expression was measured with the nCounter® technology, provided by Nanostring Technologies. Preparation and analyses were performed according to manufacturer's protocol using The PanCancer IO 360™ gene expression panel, including 770 genes and the IO 360 Analysis Service. Normalization was performed by correcting for the expression of technical controls and 30 housekeeper genes included in the panel. Forest plot statistics represent non-

adjusted p-values calculated from linear regression analysis. Differential expression volcano plots of individual genes show paired or unpaired FDR-adjusted p-values calculated from linear regression analysis.

Results

Clinical and treatment history

Clinical characteristics are displayed in Table 1. There were 73 (86%) adenocarcinomas, six squamous cell carcinomas (7%), two undifferentiated (2%) and four tumors (5%) of others NSCLC histology. Samples were mostly whole-tissue sections (brain metastasis n = 59, 69%; lung tumor n = 14, 100%). Forty-three patients (51%) were treated with systemic corticosteroids prior to neurosurgery with a mean dose of 89 milligrams of prednisolone equivalent. Brain-directed irradiation was given to 50 patients (59%), with whole brain irradiation in 16 patients (32%) or stereotactic irradiation in 24 (48%). Immunotherapy was administered to 23 patients (27%). Twenty-two patients received an anti-PD-1 monotherapy, mostly in second-line setting (17/23, 74%). Three patients received pembrolizumab as first-line treatment and one patient received a combination of chemotherapy with pembrolizumab and ipilimumab. Overall Response Rate (ORR) in 2nd line and more was 16% and Progression Free Survival (PFS) was 6,4 months. ORR in first line was 33% and PFS was 8.3 months.

Table 1: Clinico-pathological characteristics

| | N=85 | % | | N=85 | % |
|----------------------|------|----|---------------------------------------|------|----|
| Gender | | | Brain RT post op | | |
| Male | 26 | 31 | In toto | 16 | 32 |
| Female | 59 | 69 | Stereotactic | 24 | 48 |
| Age (year) | | | Unspecified | 10 | 20 |
| Mean | 60 | | Unknown | 2 | 5 |
| Smoker status | | | Corticotherapy | | |
| Never smoker | 6 | 7 | Before brain surgery | 43 | 51 |
| Former smoker | 20 | 24 | After brain surgery | 12 | 14 |
| Current smoker | 57 | 67 | None | 17 | 20 |
| NA | 2 | 2 | Unknown | 13 | 15 |
| Histology | | | Average in prednisolone (mg) | 81 | |
| Adenocarcinoma | 73 | 86 | Immunotherapy | | |
| Squamous | 6 | 7 | <i>Nivolumab</i> | 17 | 20 |
| Undifferentiated | 2 | 2 | 2nd Line | 15 | 88 |
| Other | 4 | 5 | And more | 2 | 12 |
| BM Samples | | | <i>Pembrolizumab</i> | 5 | 6 |
| Surgery | 59 | 69 | 1st Line | 3 | 60 |
| Biopsy | 26 | 31 | 2nd Line | 2 | 40 |
| | | | Nivolumab + Ipilimumab + Chemotherapy | 1 | 1 |

PD-L1 and CD8 immunohistochemistry

Due to the availability of the material, the determination of PD-L1 and CD8 expression was performed in 11 BM/lung tumor pairs. Concordance of PD-L1 expression and CD8 in paired brain metastasis and lung tumors was 36% and 75% respectively. BM samples were classified AIR, ImI, IT, InI in 22(26%), 27(32%), 14(16%) and 22(26%) respectively. PD-L1 and CD8 staining samples were considered as high in 44 (%) and 36 (%) and low in 41(%) and 49 (%) respectively.

Overall survival

The overall survival (OS) was 21,2 months, IC95% [16-30,7] (Figure 1). Median OS (mOS) was better for AIR group; mOS 31,6 months, IC95% [21.9 NA] compared with other groups (mOS IT= 28.5 months, IC95% [14.8 NA], mOS InI=9.2 months, IC 95% [6.3 36.9], mOS ImI=17.1 months, IC95% [12.6 33.8], $p= 0,05$). Accounting for all groups, the OS was correlated with CD8 expression, mOS (CD8 high) = 30.7 months, IC 95% [23.9-NA] vs 16.0 months, IC95% [9.4-27.2] in CD8 low group, $p= 0,01$ (Figure 1). There was no significant difference in OS based on *PD-L1* expression.

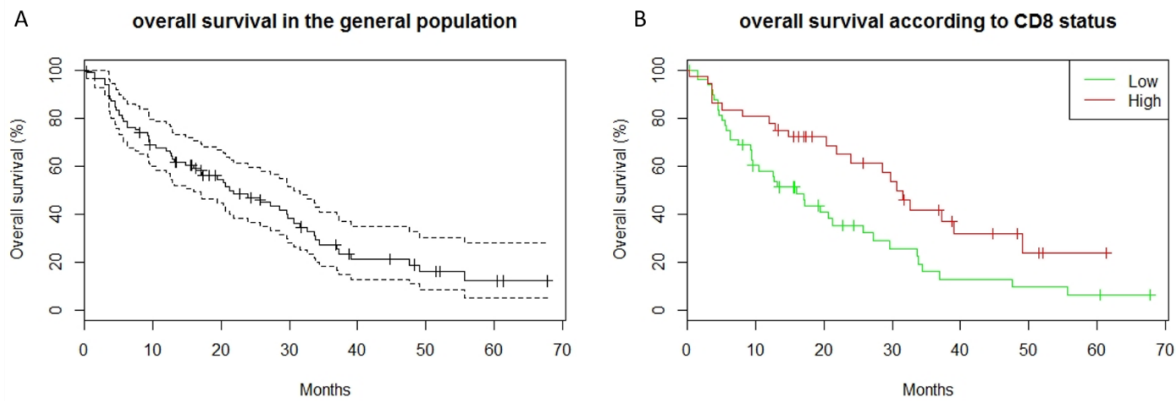


Figure 1: Overall survival, [A] in the general population and [B] according to CD8 status in BM.

Immune gene expression in brain metastasis

We analyzed 760 immune related genes expression in brain metastasis (n=83, two samples excluded) and paired lung tumor (n=14) using Nanostring PanCancer IO-360. Unsupervised hierarchical clustering revealed the presence of 3 distinct phenotypes based on immune signature scores. Cold cluster was defined as having low levels of immune gene activity compared to intermediate and hot cluster (Figure 2). Brain metastasis were enriched in cold cluster (31%) vs primary lung (14%), $p=0.012$ (Figure 2).

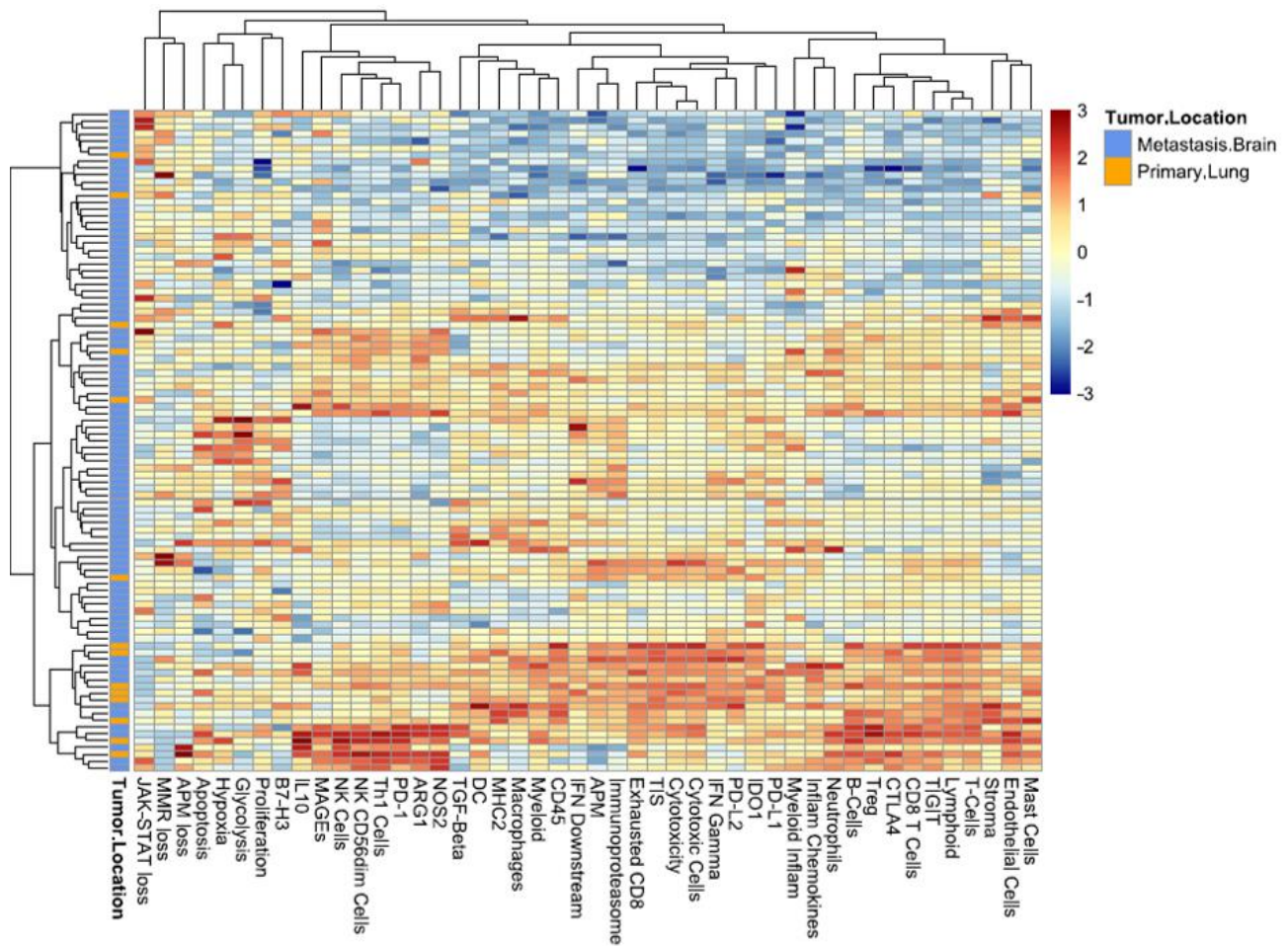


Figure 2: Immune related gene expression in brain metastasis and primary lung tumor. Differentially expressed immune-associated genes ($n=46$) were identified as described in the Methods section and depicted in the heat map. Rows denote that genes and columns represent samples lowest expression is figured by blue brightness to red for the highest (relatively up-regulated, yellow; down-regulated, blue). Tissue types are represented in the accompanying legend (brain metastases blue, primary lung orange).

Using differential expression analysis, BM were observed to had lower signature scores for multiple immune cell types vs lung tumors, including B cells ($-1.7 \log_2 \text{FC}$, $p < 0.001$), mast cells ($-2.7 \log_2 \text{FC}$, $p < 0.001$), T cells ($-1.3 \log_2 \text{FC}$, $p < 0.001$), and numerous other cell types. Additionally, we observed significantly lower scores for signatures associated with cytotoxicity, IFN- γ , *IDO1*, *CTLA-4*, *PD-L2*, *TIGIT* and *PD-L1* expression. No specific genes were upregulated in BM. (Figure 3).

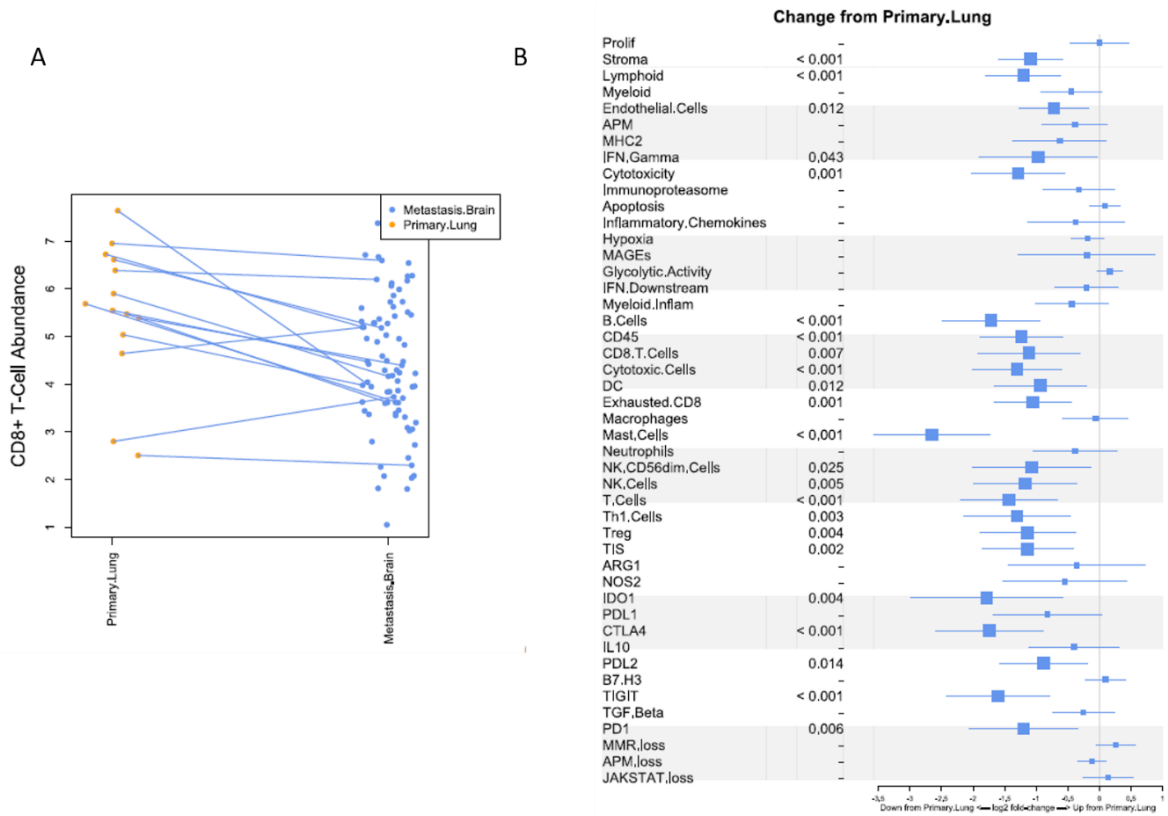


Figure 3: Unpaired analysis of differential gene expression between primary lung and brain metastases. [A] CD8 expression and [B] log2 fold change of immune gene expression.

In paired analysis, *CCL21* was the most downregulated genes in BM (-4.7 log2 fold change, $p < 0.001$) compared to lung primary tumor (Figure 4).

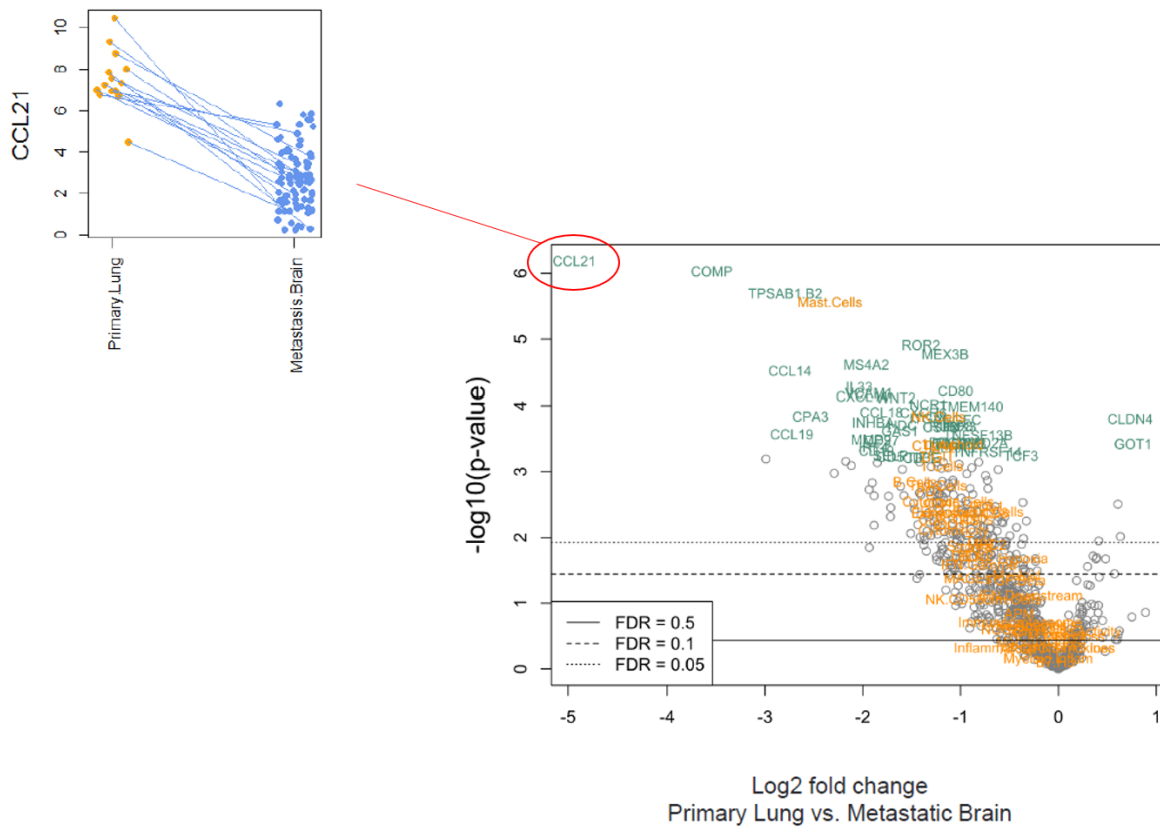


Figure 4: Immune-gene expression log₂ fold change between lung and brain tumor. Paired analysis reveals that CCL21 chemokine is the most downregulated in brain metastasis compared to primary lung.

Response to immunotherapy

We examined the association of the gene signatures with response to immunotherapy. Responders were more likely found in the AIR group and TIS was higher than in other groups, which confirms the results obtained by IHC. For all, TIS was lower in BM compared to primary lung. Additionally, there was a greater increase in immunosuppression through gene expression of myeloid cells, regulatory T cells and immune inhibitors by way of the system PD-1/CTLA-4/IDO1. Interestingly, in the AIR group, there was a large lymphocyte population (CD8, T-cell) and high immune gene expression. Despite the lower immune infiltrate within the BM when compared to lung tumors, higher immune signature scores in the BM were associated with better response. In an unpaired analysis, multiple immune

signature scores were higher in the BM of responders when compared to the BM of non-responders, including TIS ($p=0.012$), T-cells ($p=0.005$), Lymphoid ($p=0.006$), inflammatory chemokines ($p=0.004$), *CTLA-4* ($p=0.02$), *PD-L1* was not significant. TIS was also associated with response to anti-PD-1 in BM by ROC curve analysis (AUC=0.824) (Figure 5).

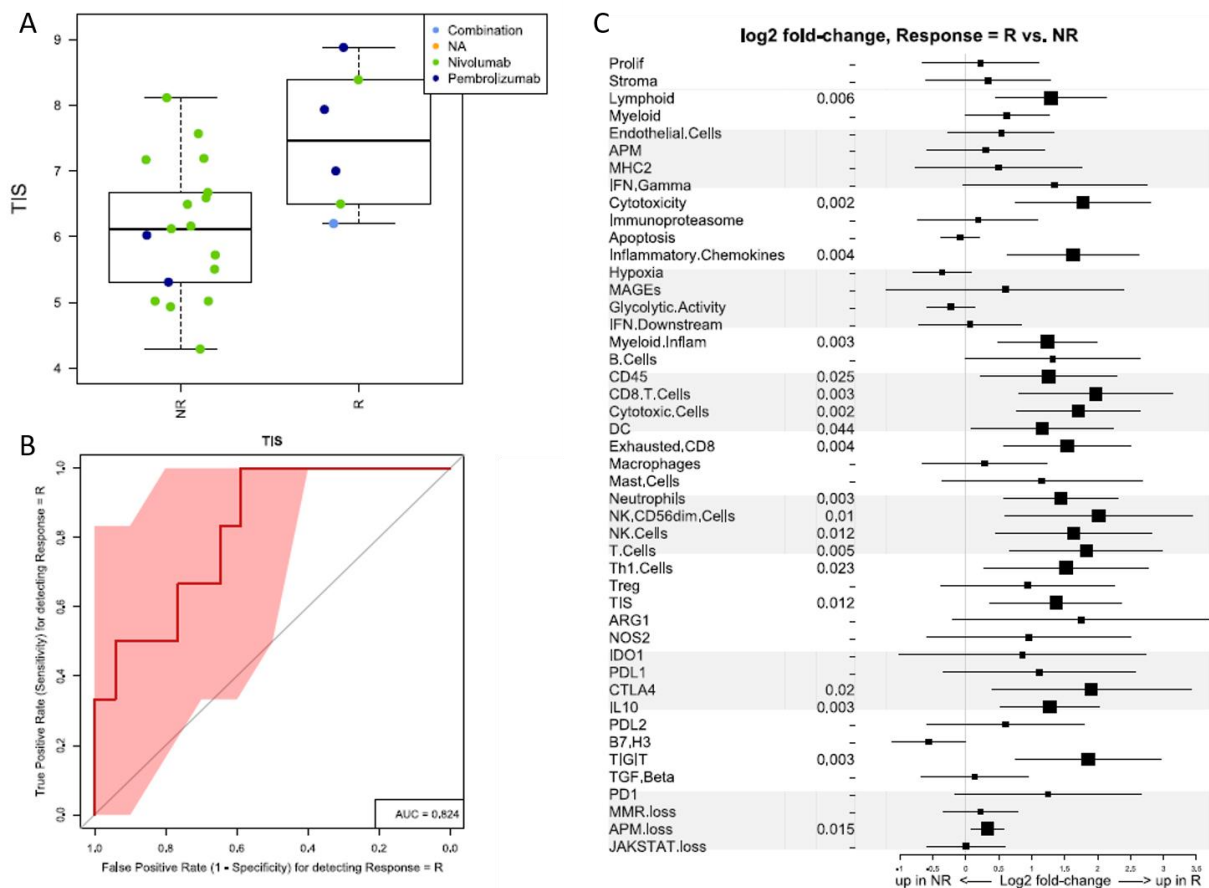


Figure 5: Efficiency of immunotherapy according to TIS and immune gene expression. [A] TIS expression between responder group and non-responder. [B] TIS correlation with response to immunotherapy. [C] Immune gene expression according Log2 fold change.

In coupled analysis, we looked whether there was a specific immune-gene regulation between responders and non-responders. We found that *RAD50* (-0.76 log2 FC, $p < 0.001$) and *P4HA2* (-1.08 log2 FC, $p = 0.006$) were the most downregulated genes in responders compared to non-responders.

Discussion:

Comparing the microenvironment landscape between the BM and primary NSCLC found an overall decrease in immune genes expression and of IFN- γ in BM. These data confirmed the previous results obtained in other studies [14, 18]. Ayers et al. observed a lower efficiency of anti-PD-1 in tumors with low IFN- γ expression [19]. On the other hand, the low *IDO1*, *PD-L1*, *CTLA-4*, *PD-L2*, *TIGIT* expression could lead to a limited efficiency of the immunotherapy and of new therapeutic agents under development as TIGIT and CD96 [20]. In our study we found a low expression of chemokines in BM. Indeed, when we compared BM and primary tumors gene expression, the chemokine C-C ligand 21 (CCL21) came out as the most downregulated. Interestingly, CCL21 is produced by the blood brain barrier cells and is involved in the leukocyte cells extravasation [21]. In mice, intra-tumoral CCL21 injection allowed for CD8⁺ and CD4⁺ recruitment [22]. In humans, these data were confirmed in a phase I vaccination trial. Out of 16 patients, 54% had intra-tumoral T lymphocytes CD8⁺ infiltration after CCL21 injection and PD-L1 mRNA was concomitantly increased [23]. Nevertheless, CCL21 vaccination did not appear to increase overall survival in a Phase 2 trial [24]. Therefore, CCL21 could be a promising drug in combination with an anti-PD-(L)1 in patients with BM. Although we found a low PD-L1 rate in BM, the all lines combined ORR was 25% and the mOS was 21.2-months. This survival was increased compared to previous studies [23]. The mean survival of our cohort is closer to the survival of oligometastatic patients (26 months in 757 patients) than of all patients with BM (12 months in 1833 patients) [25, 26]. The difference in mOS may be explained by a good performance status, a surgical management of all BMs and an EGFR-mutation found in 6 tumors. Survival was better in patients with high CD8⁺ expression. A review from Fridman et al. highlighted a favorable effect of CD8⁺ T lymphocytes on survival in the NSCLC [27]. On the other hand, the response rate to immunotherapy was close to that observed in the literature: Hendricks and colleagues found an ORR of 20.6%, Goldberg et al., reported a brain response in 33% of cases and an Italian study showed a disease control of 47.3%. [7, 10, 28]. In responding patients, we observed a good

correlation between TIS and the response to immunotherapy as beforehand described [17]. TIS was systematically lower in BM including in responding tumors compared to primary lung tumors. An increase in local immunosuppression through the recruitment of myeloid cells, regulatory T cells and immune inhibitors as also been previously showed by Kudo and colleagues [14]. T lymphocytes regulators have an important immunosuppressive role in the brain (reviewed in [11]). Tumor-related myeloid cells produce few pro-inflammatory markers and key lymphocyte co-activation molecules. On the other hand, a decrease in CD4+ lymphocytes in presence of T cells regulator was reported. When T lymphocytes regulator were blocked by an anti-CD25 antibody, the anti-tumor function of cytotoxic T lymphocytes was restored in a murine model [11]. Beyond an immunosuppressive tumor environment, there are DNA repair structure disorder within the tumor. We highlighted in all responders an inhibition of RAD50 and P4HA2. RAD50 is involved in DNA repair mechanisms within the MRE11-RAD50-NBS complex [29]. Increased RAD50 expression is associated with enhanced cancer susceptibility and chemoresistance in breast and stomach cancers [30, 31]. One study observed more radio-resistance in NSCLC cell lines achieved after resection and chemo-sensitization in RAD50 suppressed tumors [32, 33]. There is no data available on the relationship between the efficiency of immunotherapy and RAD50 or P4H2 decreased expression. One of the hypotheses could be linked to an increase in the tumor mutational burden due to the lack of tumor DNA repair leading to cell death. Indeed, the role of tumor mutational burden in the efficacy of immunotherapy in NSCLC has been demonstrated and the role of RAD50 in the efficiency of immunotherapy will need complementary studies [34, 35]. One bias of this study is the selection of patients with operated or oligometastatic BM that could have caused an increased OS. Also, the lack of some clinical data did not allow us to stratified patients according to the prognostic score Lung-mol GPA. To confirm our results, a comparative study with a NSCLC control population should be carried out.

Conclusion

Characterization of the immune landscape of BMs of NSCLC is important to provide mechanistic insight of the immunotherapy response as well as to identify new therapeutic targets. By profiling a cohort of BM and matched primary tumors, we identify location-specific transcriptional differences between the tumor sites. Furthermore, we demonstrate that the same immune signatures are associated with response to immunotherapy in BM as in primary tumors, despite an overall reduced immune presence in the BM. CCL21, involved in leukocyte cell trafficking, may represent a novel therapeutic target for NSCLC patients presenting BM. Future validation studies will provide support for these preliminary observations.

Bibliography

1. Cagney DN, Martin AM, Catalano PJ et al. Incidence and prognosis of patients with brain metastases at diagnosis of systemic malignancy: a population-based study. *Neuro-oncology* 2017; 19(11):1511–1521.
2. Sørensen JB, Hansen HH, Hansen M, Dombernowsky P. Brain metastases in adenocarcinoma of the lung: frequency, risk groups, and prognosis. *Journal of Clinical Oncology* 2016. doi:10.1200/JCO.1988.6.9.1474.
3. Pruitt AA. Epidemiology, Treatment, and Complications of Central Nervous System Metastases. *Continuum (Minneapolis)* 2017; 23(6, Neuro-oncology):1580–1600.
4. Parrish KE, Sarkaria JN, Elmquist WF. Improving drug delivery to primary and metastatic brain tumors: Strategies to overcome the blood–brain barrier. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 2015; 97(4):336–346.
5. Margolin K, Ernstoff MS, Hamid O et al. Ipilimumab in patients with melanoma and brain metastases: an open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* 2012; 13(5):459–465.
6. Tawbi HA, Forsyth PA, Algazi A et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab in Melanoma Metastatic to the Brain. *N. Engl. J. Med.* 2018; 379(8):722–730.
7. Goldberg SB, Gettinger SN, Mahajan A et al. Pembrolizumab for patients with melanoma or non-small-cell lung cancer and untreated brain metastases: early analysis of a non-randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(7):976–983.
8. McCoach CE, Berge EM, Lu X et al. A Brief Report of the Status of Central Nervous System Metastasis Enrollment Criteria for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Clinical Trials: A Review of the ClinicalTrials.gov Trial Registry. *J Thorac Oncol* 2016; 11(3):407–413.
9. Kouno S, Atagi S. Immunotherapy for NSCLC With Brain Metastases: What Can We Learn From Real-World Data? *J Thorac Oncol* 2019; 14(7):1119–1121.

10. Hendriks LEL, Henon C, Auclin E et al. Outcome of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer and Brain Metastases Treated with Checkpoint Inhibitors. *J Thorac Oncol* 2019. doi:10.1016/j.jtho.2019.02.009.
11. Quail DF, Joyce JA. The Microenvironmental Landscape of Brain Tumors. *Cancer Cell* 2017; 31(3):326–341.
12. Berghoff AS, Fuchs E, Ricken G et al. Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with extent of brain edema and overall survival time in patients with brain metastases. *Oncoimmunology* 2016; 5(1):e1057388.
13. Mansfield AS, Aubry MC, Moser JC et al. Temporal and spatial discordance of programmed cell death-ligand 1 expression and lymphocyte tumor infiltration between paired primary lesions and brain metastases in lung cancer. *Ann. Oncol.* 2016; 27(10):1953–1958.
14. Kudo Y, Haymaker C, Zhang J et al. Suppressed immune microenvironment and repertoire in brain metastases from patients with resected non-small cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2019. doi:10.1093/annonc/mdz207.
15. Lantuejoul S, Adam J, Girard N et al. [PD-L1 testing in non-small cell lung carcinoma: Guidelines from the PATTERN group of thoracic pathologists]. *Ann Pathol* 2018; 38(2):110–125.
16. Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015; 75(11):2139–2145.
17. Danaher P, Warren S, Lu R et al. Pan-cancer adaptive immune resistance as defined by the Tumor Inflammation Signature (TIS): results from The Cancer Genome Atlas (TCGA). *J Immunother Cancer* 2018; 6(1):63.
18. Szekely B, Bossuyt V, Li X et al. Immunological differences between primary and metastatic breast cancer. *Ann. Oncol.* 2018; 29(11):2232–2239.
19. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J. Clin. Invest.* 2017; 127(8):2930–2940.
20. Dougall WC, Kurtulus S, Smyth MJ, Anderson AC. TIGIT and CD96: new checkpoint receptor targets for cancer immunotherapy. *Immunol. Rev.* 2017; 276(1):112–120.
21. Nguyen T, Lagman C, Chung LK et al. Insights into CCL21's roles in immunosurveillance and immunotherapy for gliomas. *J. Neuroimmunol.* 2017; 305:29–34.
22. Lin Y, Sharma S, John MS. CCL21 Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)* 2014; 6(2):1098–1110.
23. Lee JM, Lee M-H, Garon E et al. Phase I Trial of Intratumoral Injection of CCL21 Gene-Modified Dendritic Cells in Lung Cancer Elicits Tumor-Specific Immune Responses and CD8+ T-cell Infiltration. *Clin. Cancer Res.* 2017; 23(16):4556–4568.
24. Gray JE, Chiappori A, Williams CC et al. A phase I/randomized phase II study of GM.CD40L vaccine in combination with CCL21 in patients with advanced lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2018; 67(12):1853–1862.
25. Sperduto PW, Yang TJ, Beal K et al. Estimating Survival in Patients With Lung Cancer and Brain Metastases: An Update of the Graded Prognostic Assessment for Lung Cancer Using Molecular Markers (Lung-molGPA). *JAMA Oncol* 2017; 3(6):827–831.

26. Ashworth AB, Senan S, Palma DA et al. An individual patient data metaanalysis of outcomes and prognostic factors after treatment of oligometastatic non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2014; 15(5):346–355.
27. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat. Rev. Cancer* 2012; 12(4):298–306.
28. Bidoli P, Chiari R, Catino A et al. Efficacy and safety data from patients with advanced squamous NSCLC and brain metastases participating in the nivolumab Expanded Access Programme (EAP) in Italy. *Japanese Society of Medical Oncology* 2016. doi:10.1093/annonc/mdw383.28.
29. Stingele J, Bellelli R, Boulton SJ. Mechanisms of DNA-protein crosslink repair. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2017; 18(9):563–573.
30. Altan B, Yokobori T, Ide M et al. High Expression of MRE11-RAD50-NBS1 Is Associated with Poor Prognosis and Chemoresistance in Gastric Cancer. *Anticancer Res.* 2016; 36(10):5237–5247.
31. Hsu H-M, Wang H-C, Chen S-T et al. Breast cancer risk is associated with the genes encoding the DNA double-strand break repair Mre11/Rad50/Nbs1 complex. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2007; 16(10):2024–2032.
32. Abuzeid WM, Jiang X, Shi G et al. Molecular disruption of RAD50 sensitizes human tumor cells to cisplatin-based chemotherapy. *J. Clin. Invest.* 2009; 119(7):1974–1985.
33. Wang Y, Gudikote J, Giri U et al. RAD50 Expression Is Associated with Poor Clinical Outcomes after Radiotherapy for Resected Non-small Cell Lung Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2018; 24(2):341–350.
34. Ready N, Hellmann MD, Awad MM et al. First-Line Nivolumab Plus Ipilimumab in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (CheckMate 568): Outcomes by Programmed Death Ligand 1 and Tumor Mutational Burden as Biomarkers. *J. Clin. Oncol.* 2019; 37(12):992–1000.
35. Chen Y, Liu Q, Chen Z et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden status for prediction of response to chemotherapy and targeted therapy in non-small cell lung cancer. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2019; 38(1):193.

PARTIE III : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le micro-environnement des métastases cérébrales est peu propice à l'immunothérapie du fait d'une diminution de l'infiltration immunitaire, d'une diminution du chimiotactisme et de la présence d'une population cellulaire immunosuppressive. Néanmoins, l'efficacité de l'immunothérapie est comparable à celle observée dans des sites extra-cérébraux. Dans notre étude, nous avons identifié CCL21 comme une nouvelle cible potentielle chez les patients présentant des MC ainsi qu'une baisse de RAD50 chez les patients répondeurs à l'immunothérapie. Ces résultats doivent être confirmés par des études complémentaires. Pour cela, nous allons comparer les résultats obtenus sur les couples appareillés MC/tumeurs pulmonaires à une cohorte de tumeurs pulmonaires externe soumise au même panel de gènes. Cette analyse ancillaire nous permettra de rechercher une spécificité génique dans la population de tumeurs pulmonaires métastatiques au niveau cérébral *vs* non métastatique. D'autre part, il pourrait être envisagé de nouvelles explorations concernant RAD50 sur des lignées cellulaires de métastases cérébrales afin de mieux comprendre le rôle de cette protéine dans l'efficacité de l'immunothérapie et de confirmer les données de notre étude de potentiel nouveau biomarqueur dans un essai clinique dédié. Enfin, la poursuite de la compréhension des mécanismes cellulaires impliqués dans l'efficacité de l'immunothérapie devrait apporter de nouvelles pistes thérapeutiques et permettre d'améliorer le pronostic des patients atteints de MC.

PARTIE IV : BIBLIOGRAPHIE

1. Le cancer du poumon - Les cancers les plus fréquents. [<https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequents/Cancer-du-poumon>].
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68(6):394–424.
3. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2016; 11(1):39–51.
4. Barlesi F, Mazieres J, Merlio J-P et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet* 2016; 387(10026):1415–1426.
5. Cagney DN, Martin AM, Catalano PJ et al. Incidence and prognosis of patients with brain metastases at diagnosis of systemic malignancy: a population-based study. *Neuro-oncology* 2017; 19(11):1511–1521.
6. Pruitt AA. Epidemiology, Treatment, and Complications of Central Nervous System Metastases. *Continuum (Minneapolis)* 2017; 23(6, Neuro-oncology):1580–1600.
7. Sørensen JB, Hansen HH, Hansen M, Dombernowsky P. Brain metastases in adenocarcinoma of the lung: frequency, risk groups, and prognosis. *Journal of Clinical Oncology* 2016. doi:10.1200/JCO.1988.6.9.1474.
8. Sperduto PW, Kased N, Roberge D et al. Summary report on the graded prognostic assessment: an accurate and facile diagnosis-specific tool to estimate survival for patients with brain metastases. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30(4):419–425.
9. Sperduto PW, Yang TJ, Beal K et al. The Effect of Gene Alterations and Tyrosine Kinase Inhibition on Survival and Cause of Death in Patients With Adenocarcinoma of the Lung and Brain Metastases. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2016; 96(2):406–413.
10. Sperduto PW, Yang TJ, Beal K et al. Estimating Survival in Patients With Lung Cancer and Brain Metastases: An Update of the Graded Prognostic Assessment for Lung Cancer Using Molecular Markers (Lung-molGPA). *JAMA Oncol* 2017; 3(6):827–831.
11. Noordijk EM, Vecht CJ, Haaxma-Reiche H et al. The choice of treatment of single brain metastasis should be based on extracranial tumor activity and age. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1994; 29(4):711–717.
12. Patchell RA, Tibbs PA, Walsh JW et al. A randomized trial of surgery in the treatment of single metastases to the brain. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322(8):494–500.
13. Qin H, Wang C, Jiang Y et al. Patients with single brain metastasis from non-small cell lung cancer equally benefit from stereotactic radiosurgery and surgery: a systematic review. *Med. Sci. Monit.* 2015; 21:144–152.
14. Owonikoko TK, Arbiser J, Zelnak A et al. Current approaches to the treatment of metastatic brain tumours. *Nature Reviews Clinical Oncology* 2014; 11(4):203–222.

15. Yamamoto M, Serizawa T, Shuto T et al. Stereotactic radiosurgery for patients with multiple brain metastases (JLGK0901): a multi-institutional prospective observational study. *Lancet Oncol.* 2014; 15(4):387–395.
16. Pechoux CL, Dhermain F, Besse B. Whole brain radiotherapy in patients with NSCLC and brain metastases. *Lancet* 2016; 388(10055):1960–1962.
17. Sperduto PW, Shanley R, Luo X et al. Secondary analysis of RTOG 9508, a phase 3 randomized trial of whole-brain radiation therapy versus WBRT plus stereotactic radiosurgery in patients with 1-3 brain metastases; poststratified by the graded prognostic assessment (GPA). *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2014; 90(3):526–531.
18. Mulvenna P, Nankivell M, Barton R et al. Dexamethasone and supportive care with or without whole brain radiotherapy in treating patients with non-small cell lung cancer with brain metastases unsuitable for resection or stereotactic radiotherapy (QUARTZ): results from a phase 3, non-inferiority, randomised trial. *Lancet* 2016; 388(10055):2004–2014.
19. Soffiatti R, Abacioglu U, Baumert B et al. Diagnosis and treatment of brain metastases from solid tumors: guidelines from the European Association of Neuro-Oncology (EANO). *Neuro Oncol* 2017; 19(2):162–174.
20. Aoyama H, Shirato H, Tago M et al. Stereotactic radiosurgery plus whole-brain radiation therapy vs stereotactic radiosurgery alone for treatment of brain metastases: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295(21):2483–2491.
21. Kocher M, Soffiatti R, Abacioglu U et al. Adjuvant whole-brain radiotherapy versus observation after radiosurgery or surgical resection of one to three cerebral metastases: results of the EORTC 22952-26001 study. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(2):134–141.
22. Patchell RA, Tibbs PA, Regine WF et al. Postoperative radiotherapy in the treatment of single metastases to the brain: a randomized trial. *JAMA* 1998; 280(17):1485–1489.
23. Chang EL, Wefel JS, Hess KR et al. Neurocognition in patients with brain metastases treated with radiosurgery or radiosurgery plus whole-brain irradiation: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2009; 10(11):1037–1044.
24. Peters S, Bexelius C, Munk V, Leighl N. The impact of brain metastasis on quality of life, resource utilization and survival in patients with non-small-cell lung cancer. *Cancer Treat. Rev.* 2016; 45:139–162.
25. Bezjak A, Adam J, Barton R et al. Symptom response after palliative radiotherapy for patients with brain metastases. *European Journal of Cancer* 2002; 38(4):487–496.
26. Khasraw M, Posner JB. Neurological complications of systemic cancer. *Lancet Neurol* 2010; 9(12):1214–1227.
27. Dawe DE, Greenspoon JN, Ellis PM. Brain metastases in non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2014; 15(4):249–257.
28. Qin H, Pan F, Li J et al. Whole brain radiotherapy plus concurrent chemotherapy in non-small cell lung cancer patients with brain metastases: a meta-analysis. *PLoS ONE* 2014; 9(10):e111475.
29. Robinet G, Thomas P, Breton JL et al. Results of a phase III study of early versus delayed whole brain radiotherapy with concurrent cisplatin and vinorelbine combination in inoperable brain metastasis of

non-small-cell lung cancer: Groupe Français de Pneumo-Cancérologie (GFPC) Protocol 95-1. *Ann. Oncol.* 2001; 12(1):59–67.

30. Quail DF, Joyce JA. The Microenvironmental Landscape of Brain Tumors. *Cancer Cell* 2017; 31(3):326–341.
31. Davies DC. Blood-brain barrier breakdown in septic encephalopathy and brain tumours. *J. Anat.* 2002; 200(6):639–646.
32. Papadopoulos MC, Saadoun S, Davies DC, Bell BA. Emerging molecular mechanisms of brain tumour oedema. *Br J Neurosurg* 2001; 15(2):101–108.
33. Abbott NJ, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7(1):41–53.
34. Lampson LA. Monoclonal antibodies in neuro-oncology: Getting past the blood-brain barrier. *MAbs* 2011; 3(2):153–160.
35. Sandler A, Gray R, Perry MC et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2006; 355(24):2542–2550.
36. Besse B, Le Moulec S, Mazières J et al. Bevacizumab in Patients with Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer and Asymptomatic, Untreated Brain Metastases (BRAIN): A Nonrandomized, Phase II Study. *Clin. Cancer Res.* 2015; 21(8):1896–1903.
37. Fan Y, Xu X, Xie C. EGFR-TKI therapy for patients with brain metastases from non-small-cell lung cancer: a pooled analysis of published data. *Onco Targets Ther* 2014; 7:2075–2084.
38. Hoffknecht P, Tufman A, Wehler T et al. Efficacy of the irreversible ErbB family blocker afatinib in epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor (TKI)-pretreated non-small-cell lung cancer patients with brain metastases or leptomeningeal disease. *J Thorac Oncol* 2015; 10(1):156–163.
39. Reungwetwattana T, Nakagawa K, Cho BC et al. CNS Response to Osimertinib Versus Standard Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in Patients With Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2018:JCO2018783118.
40. Johung KL, Yeh N, Desai NB et al. Extended Survival and Prognostic Factors for Patients With ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer and Brain Metastasis. *J. Clin. Oncol.* 2016; 34(2):123–129.
41. Soria J-C, Tan DSW, Chiari R et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet* 2017; 389(10072):917–929.
42. Peters S, Camidge DR, Shaw AT et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(9):829–838.
43. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5):646–674.
44. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat. Rev. Cancer* 2012; 12(4):298–306.
45. Doroshow DB, Sanmamed MF, Hastings K et al. Immunotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: Facts and Hopes. *Clin. Cancer Res.* 2019. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1538.
46. Anagnostou VK, Brahmer JR. Cancer immunotherapy: a future paradigm shift in the treatment of non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 2015; 21(5):976–984.

47. Garon EB, Rizvi NA, Hui R et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372(21):2018–2028.
48. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. [<https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1200690>].
49. Gentles AJ, Newman AM, Liu CL et al. The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers. *Nat. Med.* 2015; 21(8):938–945.
50. Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015; 75(11):2139–2145.
51. Peters S, Cappuzzo F, Horn L et al. OA03.05 Analysis of Early Survival in Patients with Advanced Non-Squamous NSCLC Treated with Nivolumab vs Docetaxel in CheckMate 057. *Journal of Thoracic Oncology* 2017; 12(1):S253.
52. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376(25):2415–2426.
53. Zehir A, Benayed R, Shah RH et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat. Med.* 2017; 23(6):703–713.
54. Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee EM. Tumor Mutational Burden and Response Rate to PD-1 Inhibition. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(25):2500–2501.
55. Prelaj A, Tay R, Ferrara R et al. Predictive biomarkers of response for immune checkpoint inhibitors in non-small-cell lung cancer. *Eur. J. Cancer* 2019; 106:144–159.
56. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373(17):1627–1639.
57. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2015; 373(2):123–135.
58. Herbst RS, Baas P, Kim D-W et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet* 2016; 387(10027):1540–1550.
59. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2017; 389(10066):255–265.
60. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375(19):1823–1833.
61. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2018; 379(21):2040–2051.
62. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2018; 378(22):2078–2092.
63. McCoach CE, Berge EM, Lu X et al. A Brief Report of the Status of Central Nervous System Metastasis Enrollment Criteria for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Clinical Trials: A Review of the ClinicalTrials.gov Trial Registry. *J Thorac Oncol* 2016; 11(3):407–413.

64. Arbour KC, Mezquita L, Long N et al. Impact of Baseline Steroids on Efficacy of Programmed Cell Death-1 and Programmed Death-Ligand 1 Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2018; 36(28):2872–2878.
65. Lin NU, Lee EQ, Aoyama H et al. Challenges relating to solid tumour brain metastases in clinical trials, part 1: patient population, response, and progression. A report from the RANO group. *Lancet Oncol.* 2013; 14(10):e396-406.
66. Martin AM, Cagney DN, Catalano PJ et al. Immunotherapy and Symptomatic Radiation Necrosis in Patients With Brain Metastases Treated With Stereotactic Radiation. *JAMA Oncol* 2018; 4(8):1123–1124.
67. Hochmair MJ, Schwab S, Burghuber OC et al. Symptomatic pseudo-progression followed by significant treatment response in two lung cancer patients treated with immunotherapy. *Lung Cancer* 2017; 113:4–6.
68. Doherty MK, Jao K, Shepherd FA et al. Central Nervous System Pseudoprogression in a Patient Treated with PD-1 Checkpoint Inhibitor. *J Thorac Oncol* 2015; 10(10):e100-101.
69. Provencio M, Carcereny E, Artal Á. Consensus on the use of immune-related response criteria to evaluate the efficacy of immunotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol* 2019. doi:10.1007/s12094-019-02072-4.
70. Lin NU, Wefel JS, Lee EQ et al. Challenges relating to solid tumour brain metastases in clinical trials, part 2: neurocognitive, neurological, and quality-of-life outcomes. A report from the RANO group. *Lancet Oncol.* 2013; 14(10):e407-416.
71. Mok TSK, Wu Y-L, Kudaba I et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2019; 393(10183):1819–1830.
72. Borghaei H, Langer CJ, Gadgeel S et al. 24-Month Overall Survival from KEYNOTE-021 Cohort G: Pemetrexed and Carboplatin with or without Pembrolizumab as First-Line Therapy for Advanced Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2019; 14(1):124–129.
73. Reck M, Schenker M, Lee KH et al. Nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy as first-line treatment in advanced non-small-cell lung cancer with high tumour mutational burden: patient-reported outcomes results from the randomised, open-label, phase III CheckMate 227 trial. *Eur. J. Cancer* 2019; 116:137–147.
74. West H, McCleod M, Hussein M et al. Atezolizumab in combination with carboplatin plus nab-paclitaxel chemotherapy compared with chemotherapy alone as first-line treatment for metastatic non-squamous non-small-cell lung cancer (IMpower130): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019; 20(7):924–937.
75. A Study of Atezolizumab in Combination With Carboplatin + Paclitaxel or Carboplatin + Nab-Paclitaxel Compared With Carboplatin + Nab-Paclitaxel in Participants With Stage IV Squamous Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) [IMpower131] - Full Text View - ClinicalTrials.gov. [<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02367794>].
76. Papadimitrakopoulou V, Cobo M, Bordoni R et al. OA05.07 IMpower132: PFS and Safety Results with 1L Atezolizumab + Carboplatin/Cisplatin + Pemetrexed in Stage IV Non-Squamous NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology* 2018; 13(10):S332–S333.

77. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N. Engl. J. Med.* 2018; 378(24):2288–2301.
78. Ransohoff RM, Engelhardt B. The anatomical and cellular basis of immune surveillance in the central nervous system. *Nat. Rev. Immunol.* 2012; 12(9):623–635.
79. Shechter R, London A, Schwartz M. Orchestrated leukocyte recruitment to immune-privileged sites: absolute barriers versus educational gates. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13(3):206–218.
80. Goldmann J, Kwidzinski E, Brandt C et al. T cells traffic from brain to cervical lymph nodes via the cribroid plate and the nasal mucosa. *J. Leukoc. Biol.* 2006; 80(4):797–801.
81. Mondin V, Ferlito A, Devaney KO et al. A survey of metastatic central nervous system tumors to cervical lymph nodes. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2010; 267(11):1657–1666.
82. Szekely B, Bossuyt V, Li X et al. Immunological differences between primary and metastatic breast cancer. *Ann. Oncol.* 2018; 29(11):2232–2239.
83. Kudo Y, Haymaker C, Zhang J et al. Suppressed immune microenvironment and repertoire in brain metastases from patients with resected non-small cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2019. doi:10.1093/annonc/mdz207.
84. Berghoff AS, Fuchs E, Ricken G et al. Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with extent of brain edema and overall survival time in patients with brain metastases. *Oncoimmunology* 2016; 5(1):e1057388.
85. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat. Rev. Cancer* 2012; 12(4):298–306.
86. Mansfield AS, Aubry MC, Moser JC et al. Temporal and spatial discordance of programmed cell death-ligand 1 expression and lymphocyte tumor infiltration between paired primary lesions and brain metastases in lung cancer. *Ann. Oncol.* 2016; 27(10):1953–1958.
87. Dudnik E, Yust-Katz S, Nechushtan H et al. Intracranial response to nivolumab in NSCLC patients with untreated or progressing CNS metastases. *Lung Cancer* 2016; 98:114–117.
88. Crinò L, Bidoli P, Ulivi P et al. P1.01-053 Italian Nivolumab Expanded Access Programme (EAP): Data from Patients with Advanced Non-Squamous NSCLC and Brain Metastases. *Journal of Thoracic Oncology* 2017; 12(11):S1915.
89. Gauvain C, Vauléon E, Chouaid C et al. Intracerebral efficacy and tolerance of nivolumab in non-small-cell lung cancer patients with brain metastases. *Lung Cancer* 2018; 116:62–66.
90. Hendriks LEL, Henon C, Auclin E et al. Outcome of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer and Brain Metastases Treated with Checkpoint Inhibitors. *J Thorac Oncol* 2019. doi:10.1016/j.jtho.2019.02.009.
91. Goldberg SB, Gettinger SN, Mahajan A et al. Pembrolizumab for patients with melanoma or non-small-cell lung cancer and untreated brain metastases: early analysis of a non-randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(7):976–983.
92. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score of 50% or Greater. *J. Clin. Oncol.* 2019; 37(7):537–546.

93. Hannani D, Sistigu A, Kepp O et al. Prerequisites for the antitumor vaccine-like effect of chemotherapy and radiotherapy. *Cancer J* 2011; 17(5):351–358.
94. Ménard C, Martin F, Apetoh L et al. Cancer chemotherapy: not only a direct cytotoxic effect, but also an adjuvant for antitumor immunity. *Cancer Immunol. Immunother.* 2008; 57(11):1579–1587.
95. Lhuillier C, Rudqvist N-P, Elemento O et al. Radiation therapy and anti-tumor immunity: exposing immunogenic mutations to the immune system. *Genome Med* 2019; 11(1):40.
96. Kwilas AR, Donahue RN, Bernstein MB, Hodge JW. In the field: exploiting the untapped potential of immunogenic modulation by radiation in combination with immunotherapy for the treatment of cancer. *Front Oncol* 2012. doi:10.3389/fonc.2012.00104.
97. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* 2017; 377(20):1919–1929.
98. Dovedi SJ, Adlard AL, Lipowska-Bhalla G et al. Acquired resistance to fractionated radiotherapy can be overcome by concurrent PD-L1 blockade. *Cancer Res.* 2014; 74(19):5458–5468.
99. Knisely JPS, Yu JB, Flanigan J et al. Radiosurgery for melanoma brain metastases in the ipilimumab era and the possibility of longer survival. *J. Neurosurg.* 2012; 117(2):227–233.
100. Silk AW, Bassetti MF, West BT et al. Ipilimumab and radiation therapy for melanoma brain metastases. *Cancer Med* 2013; 2(6):899–906.
101. Singh C, Qian JM, Yu JB, Chiang VL. Local tumor response and survival outcomes after combined stereotactic radiosurgery and immunotherapy in non-small cell lung cancer with brain metastases. *J. Neurosurg.* 2019:1–6.
102. Karivedu V, Jandarov R, Wise-Draper TM. Brain metastases treated with immune checkpoint inhibitors: A single center experience. *JCO* 2018; 36(15_suppl):e14012–e14012.
103. Nolte SM, Venugopal C, McFarlane N et al. A cancer stem cell model for studying brain metastases from primary lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2013; 105(8):551–562.
104. Ribas A, Robert C, Hodi FS et al. Association of response to programmed death receptor 1 (PD-1) blockade with pembrolizumab (MK-3475) with an interferon-inflammatory immune gene signature. *JCO* 2015; 33(15_suppl):3001–3001.
105. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J. Clin. Invest.* 2017; 127(8):2930–2940.
106. Ott PA, Bang Y-J, Piha-Paul SA et al. T-Cell-Inflamed Gene-Expression Profile, Programmed Death Ligand 1 Expression, and Tumor Mutational Burden Predict Efficacy in Patients Treated With Pembrolizumab Across 20 Cancers: KEYNOTE-028. *J. Clin. Oncol.* 2019; 37(4):318–327.
107. Danaher P, Warren S, Lu R et al. Pan-cancer adaptive immune resistance as defined by the Tumor Inflammation Signature (TIS): results from The Cancer Genome Atlas (TCGA). *J Immunother Cancer* 2018; 6(1):63.

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

CONTEXTE : Les métastases cérébrales (MC) dans les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) sont associées à un mauvais pronostic et à une résistance au traitement systémique. La caractérisation du micro-environnement immunitaire des MC permettrait de fournir un rationnel à l'utilisation de l'immunothérapie et d'aider à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques.

MATÉRIELS ET MÉTHODES : 85 MC de CBNPC avancés naïfs de tout traitement et 14 tumeurs primaires pulmonaires appariées ont été collectées. L'expression de 770 gènes impliqués dans la réponse immunitaire a été évaluée par le panel PanCancer IO360 (NanoString Technologies, Inc). Les données ont été comparées entre MC et tumeurs primitives. La réponse objective aux anti-PD-1 a été évaluée selon les critères RECIST 1.1.

RÉSULTATS : L'environnement immunitaire tumoral des MC était plus « froid » comparativement aux CBNPC primitifs, avec 92% des MC dans le cluster « froid » et 58% des tumeurs primaires dans le cluster « chaud ». L'expression de gènes caractérisant les différents types de cellules immunitaires étaient réprimés dans les MC par rapport aux tumeurs primitives, notamment pour les lymphocytes B (-1,7 log₂ FC, $p < 0,001$), les mastocytes (-2,7 log₂ FC, $p < 0,001$) et les lymphocytes T (-1,3 log₂ FC, $p < 0,001$). L'expression des gènes associées aux lymphocytes cytotoxiques, aux voies *IFN- γ* , *IDO1*, *CTLA-4*, *PD-L2*, *TIGIT* et *PD-1* étaient plus faibles dans les MC. En analyse pairée, la chimiokine *CCL21* était le gène le moins exprimé dans les MC (-4,7 log₂ FC, $p < 0,001$). La signature immunitaire tumorale était corrélée à la réponse à l'immunothérapie dans les MC (AUC=0,824). La répression de l'expression de *RAD50* (-0,76 log₂ FC, $p < 0,001$) et de *P4HA2* (-1,08 log₂ FC, $p = 0,006$) étaient associées à la réponse à l'immunothérapie par anti-PD-1.

CONCLUSION : Le micro-environnement immunitaire est moins favorable à l'efficacité des anti-PD-1 dans les MC que dans les tumeurs primitives. La chimiokine *CCL21* pourrait être une nouvelle cible thérapeutique dans les MC des CBNPC.

TITRE EN ANGLAIS: Immunological differences between brain metastases and primary lung tumors in metastatic non-small lung cancers: clinical and therapeutic implications

THÈSE : Médecine Spécialisée, Année 2019

MOTS-CLÉS : Immunothérapie / Cancer bronchique non à petites cellules / *CCL21* / Métastases cérébrales / *RAD50*

INTITULÉ ET ADRESSE :

Université De Lorraine
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex
