



HAL
open science

Valeur pronostique des sous-types de mutations de KRAS dans les adénocarcinomes pulmonaires en récidive traités par immunothérapie dans une cohorte française rétrospective

Julia Ruuth-Praz

► **To cite this version:**

Julia Ruuth-Praz. Valeur pronostique des sous-types de mutations de KRAS dans les adénocarcinomes pulmonaires en récurrence traités par immunothérapie dans une cohorte française rétrospective. Médecine humaine et pathologie. 2019. hal-03298378

HAL Id: hal-03298378

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03298378>

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>

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Spécialité : Pneumologie

présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du Troisième Cycle des Etudes Médicales

par

Julia RUUTH-PRAZ

Le 23 octobre 2019

**Valeur pronostique des sous-types de mutations de *KRAS*
dans les adénocarcinomes pulmonaires en récurrence traités
par immunothérapie dans une cohorte française rétrospective**

Directeur :

M. le Professeur Stéphane RENAUD

Membres du jury :

Président : M. le Professeur François CHABOT, Nancy

Juges : M. le Professeur Stéphane RENAUD, Nancy

Mme la Professeure Michèle BEAU-FALLER, Strasbourg

M. le Docteur Jonathan SPICER, Montréal



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 : Dr Guillaume VOGIN

Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER

PACES : Dr 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 - Emile de LAVERGNE
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-Pierre CRANCE - Gilbert FAURE
Bernard FOLIGUET - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Michèle KESSLER - François KOHLER
Alain LE FAOU - Jacques LECLERE - Yves MARTINET - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Luc PICARD
François PLENAT - Jean-Pierre VILLEMOT

=====

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 Jean-Michel VIGNAUD – 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

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

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeure Valérie CROISÉ -

Professeur Jacques FELBLINGER – 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 CHENUÉL

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 François GUILLEMIN - Professeur Didier PEIFFERT - Professeur Frédéric MARCHAL

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 - Professeur Faiez ZANNAD

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 Jean AUQUE - 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-vénéréologie)

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

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^e 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^e Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^e Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65^e Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeure associée Sophie SIEGRIST

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^e Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

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

Docteur Bruno GRIGNON

43^e Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

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

Docteur Antoine VERGER

44^e 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 Mathias POUSSEL – Docteur Jacques JONAS

45^e 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^e 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

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^e Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

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

Docteure Aurore PERROT – Docteur Julien BROSEUS – Docteure Maud D'AVENI (stagiaire)

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

Docteure Lina BOLOTINE – Docteur Guillaume VOGIN

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 (stagiaire)

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

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

1° sous-section : (*Rhumatologie*)

Docteure Anne-Christine RAT

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 (stagiaire)

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

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

Docteur Jean-Baptiste CHEVAUX – 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 (stagiaire)

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

Docteure Isabelle KOSCINSKI

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 GÉNÉRALES

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 - Madame Ketsia HESS - 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 - Docteur Olivier BOUCHY - Docteur Jean-Michel MARTY

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Docteur Charles A. BERRY (1982)
École de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Docteur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Rhode Island University, Providence (U.S.A)
Docteur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Docteur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Docteur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (Institute of Technology, Atlanta (USA)

Docteur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Pennsylvanie (U.S.A)
Docteur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Docteur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)
Docteur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Docteur Marc LEVENSTON (2005)
Docteur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Docteur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Docteur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Docteur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENTS

A mon Maître et Président du Jury

Monsieur le Professeur François CHABOT

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Chef de Service du Département de Pneumologie du CHRU de Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de présider cette Thèse.

Je vous suis reconnaissante de votre implication dans ma formation en pneumologie. J'ai particulièrement apprécié votre rigueur intellectuelle, votre sens clinique, vos précieux conseils, et vos encouragements constants.

Je suis très honorée de poursuivre ma formation au sein de votre service.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de mon profond respect et ma reconnaissance.

A mon Maître et Directeur de Thèse

Monsieur le Professeur Stéphane RENAUD

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Département de Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire du CHRU de Nancy

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en ayant accepté d'être le Directeur de cette Thèse.

Je vous suis reconnaissante de m'avoir soutenue et encadrée tout au long de ce travail, ainsi que pour votre enthousiasme et votre patience face à mes innombrables questions. Grâce à vous, je me suis familiarisée à la démarche scientifique et méthodologique nécessaire pour mener à bien un projet de recherche clinique de qualité.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de mon profond respect et ma gratitude.

A mon Maître et Juge

Madame la Professeure Michèle BEAU-FALLER

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Département de Biologie Moléculaire du CHRU de Strasbourg

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger cette Thèse.

Je vous suis reconnaissante de vos précieux conseils, de votre relecture exigeante, et d'avoir partagé votre expertise dans ce domaine, qui m'a permis de mieux appréhender ce sujet complexe et passionnant.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de mon profond respect et ma reconnaissance.

A mon Maître et Juge

Monsieur le Docteur Jonathan SPICER

Praticien Hospitalier

Département de Chirurgie Thoracique de l'Université de McGill

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en acceptant de juger cette Thèse.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de mon profond respect et ma reconnaissance.

Aux médecins avec qui j'ai eu le plaisir de travailler,

A Angelica Tiotiu : merci de ton encadrement et de ta patience lorsque je n'étais que premier semestre au BPC3. Merci de m'avoir donné l'idée de ce travail.

A tous les médecins du Département de Pneumologie de Nancy : M. Chaouat, M. Billon, M. Gomez, Mme Guillaumot, M. Kheir, M. Vaillant : je vous remercie de m'avoir enseigné les différents champs de la pneumologie, et de m'avoir accompagné dans mon apprentissage d'interne.

A M. Champy, Gina, Samad, Chahinaze, et toute l'équipe infirmière du service de pneumologie du CHED : merci pour votre accueil et votre encadrement, et merci pour toutes les fibroscopies.

A M. Scheid, M. Bic, M. Moreau, M. Gérin et Florence Renolleau, et toute l'équipe paramédicale de Gentilly : merci de m'avoir fait découvrir la pneumologie libérale, et une autre façon de faire de l'oncologie thoracique.

A toute l'équipe du Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil : ces 6 mois parmi vous m'ont beaucoup appris, et m'ont conforté dans mon envie de travailler en oncologie thoracique et de faire de la recherche. Et plus particulièrement, merci à Amel pour tes encouragements, ta ré-assurance, et ta bienveillance.

A tous mes chefs de clinique de Nancy (Ahmed, Morgane, Dimitri, Julie, Margot, Arnaud, Julien, Laure-Aléa) : merci de m'avoir encadrée, de m'avoir appris tant de choses, et de m'avoir corrigée. Et surtout à Morgane : merci pour ta patience, et ta compréhension.

A ma famille,

A mes parents, Françoise et Erik, qui m'ont donné, entre autres, le goût des sciences et l'envie d'apprendre. Merci de m'avoir soutenue, encouragée et épaulée tout au long de mes longues études. Merci pour votre amour inconditionnel.

A Lucas, mon frère, merci pour tous ces instants de joie et de rire partagés. Bonne chance à toi pour la suite.

A Madeleine et Henri, qui m'ont transmis leur rigueur scientifique, et l'importance du raisonnement logique. Ainsi que l'utilité des nombres premiers.

Till Anders och Margareta, min farfar och min farmor, tack för alla de svenska somrarna tillsammans.

A Anita et Claudia, grâce à qui j'ai perfectionné mon tango, même si je n'ai toujours pas l'oreille musicale.

A Marie-Aline, Jean-Denis, Marion et Lise, merci pour le tiramisu et le reste.

Till Lars, Hanne, Simon och Ingrid, tack för er kärlek, er musik, och alla kubbspelsmatcher.

A mes amis,

A Chloé, mon amie d'enfance : même si on a pris des chemins différents, on se retrouve régulièrement et c'est toujours une joie. Merci d'avoir été un soutien pendant toute mon enfance et mon adolescence.

A Mélanie : à tous ces souvenirs de voyage et de concert passés, et à ceux à venir.

A Delphine : c'est toujours un plaisir de discuter sciences, mais pas que, avec toi.

A mes amis de Paris VI, Ram, Raphaëlle, Cassandre, Laura, Emeline et Sara : merci pour toutes ces belles années d'externat, je n'en serai pas là sans vous.

A Pauline et Mathilde, mes amies. Je suis heureuse de vous avoir rencontrées en venant à Nancy, vous avez été une force pour moi pendant ces quatre ans.

A Pierre, Léa, et Saïd, merci pour votre aide et votre soutien pendant ces 4 ans.

A mes co-internes : Laura, Bruno, Simon, Aurélien, Carole, Hélène, Benjamin, et tous les autres. C'était un plaisir de travailler avec vous, et je suis ravie à l'idée de poursuivre notre collaboration encore quelques années avec certains d'entre vous.

A Arnaud et Romain, les premiers internes référents de pneumologie lors de mon arrivée à Nancy. Merci d'avoir su faciliter mon arrivée dans le service et la spécialité.

SERMENT

« Au moment d'être admise 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. Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue 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 déshonorée et méprisée si j'y manque ».

TABLE DES MATIERES

Remerciements	8
Liste des abréviations	18
I. Introduction	20
1.1 Le cancer pulmonaire : épidémiologie, facteurs de risque, et histologie	20
1.2 La biologie moléculaire, un tournant dans la caractérisation et le traitement des CBNPC : l'exemple d' <i>EGFR</i>	21
1.3 <i>KRAS</i> : une mutation fréquente dans le CBNPC	23
1.4 L'immunothérapie : un tournant de la prise en charge des CBNPC avancés	28
1.5 Immunothérapie et driver oncogénique	32
II. Objectif	35
III. Article	36
3.1 Abstract	37
3.2 Background	38
3.3 Materials and Methods	40
3.3.a Study design and patients' selection	40
3.3.b Data collection	41
3.3.c Response assesment	42
3.3.d Endpoints	42
3.3.e Statistical analysis	42

3.4 Results	44
3.4.a Clinical and molecular characteristics	44
3.4.b Overall survival	44
3.4.c Time to progression	45
3.4.d Response to immunotherapy	46
3.5 Discussion	48
3.6 Additional Information	53
3.7 References	54
3.8 Tables	59
3.9 Figures	67
IV. Conclusion	69
V. Bibliographie	74
VI. Résumé	78

LISTE DES ABREVIATIONS

AAS	Amino acid substitution
ALK	Anaplastic lymphoma kinase
ATP	Adenosine triphosphate
CBNPC	Cancer Bronchique Non à Petites Cellules
CCI	Charlson comorbidity index
CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
EGFR	Epidermal growth factor receptor
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
GDP	Guanosine diphosphate
GTP	Guanosine triphosphate
Gy	Gray
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2
HR	Hazard ratio
ITK	Inhibiteur de tyrosine kinase
kD	kilo Dalton
KRAS	V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
Mb	Mégabase
MET	MET proto-oncogene receptor tyrosine kinase
mTOR	Mechanistic target of rapamycin
NSCLC	Non small cell lung cancer
OR	Odds ratio
ORR	Objective Response Rate
OS	Overall survival

PD-1	Programmed death 1
PD-L1	Programmed death ligand 1
PFS	Progression free survival
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PS	Performans status
RAF	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
ROS1	ROS proto-oncogen 1 receptor tyrosine kinase
TILs	Tumour infiltrating lymphocytes
TMB	Tumour mutational burden
TP53	Tumor protein 53
TTP	Time to progression
WHO	World Health Organization
WT	Wild type
SG	Survie globale
SSP	Survie sans progression
STK11	Serine/threonine kinase 11
LKB1	Liver kinase B1
CDKN2A/B	Cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A
NKX2-1	NK2 Homeobox 1

I. INTRODUCTION

1.1 Le cancer pulmonaire : épidémiologie, facteurs de risque, et histologie

Le cancer du poumon représente en 2018 le 1er cancer en terme d'incidence avec 2,1 millions de nouveaux cas, et la 1^{ère} cause de mortalité par cancer, avec 1,8 millions de décès. Dans les pays occidentaux, l'incidence du cancer bronchopulmonaire se stabilise, voire diminue, chez les hommes, mais continue d'augmenter chez les femmes, en suivant avec retard l'incidence du tabagisme dans la population (1). Le tabagisme, et notamment sa durée au cours de la vie, est en effet le facteur de risque principal de cancer pulmonaire, toutes histologies confondues, avec un risque relatif entre 20 et 50. Ce risque décroît progressivement à l'arrêt du tabagisme, mais un sur-risque persistera durant toute la vie des ex-fumeurs. Les autres facteurs de risque sont le tabagisme passif avec un sur-risque de 20% à 30% pour les conjoints de fumeurs, la pollution de l'air intérieur, notamment en Asie avec la combustion de biomasse dans des locaux peu ventilés, l'exposition professionnelle, avec comme chef de file l'amiante, et la pollution atmosphérique, avec 11% des cancers pulmonaires attribuables à celle-ci en Europe. Les rayons ionisants, par exposition environnementale (Radon), professionnelle (mineur), ou médicale (radiothérapie avec une dose cumulée supérieure à 100 Gy), présentent un facteur de risque linéaire de cancer pulmonaire, sans seuil défini. Il existe également des facteurs de risque génétiques, comme le suggère l'existence de clusters familiaux de cancers pulmonaires. Certains variants du gène tumor protein 53 (*TP53*), le locus de susceptibilité 6q23-25p, et un locus au niveau du chromosome 15 semblent majorer le risque de cancer pulmonaire (2,3).

Le cancer pulmonaire se divise classiquement en 2 grands types histologiques : le cancer bronchique à petites cellules, et le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC). Le cancer bronchique à petites cellules, très agressif, se présente le plus souvent sous une forme disséminée d'emblée et représente environ 15% des cancers bronchiques. Le CBNPC, qui représente environ 85% des cancers pulmonaires, se divise en plusieurs sous types histologiques. Les plus fréquents sont l'adénocarcinome (environ 40% des cas), le carcinome épidermoïde (environ 25 à 30%), et les carcinomes à grandes cellules (environ 3%) (4). Environ 70% des CBNPC sont diagnostiqués à un stade localement avancé ou métastatique, ce qui grève le pronostic. En effet, la survie à 5 ans est variable en fonction du stade initial de la maladie : de 55% pour les stades localisés, elle diminue à 27% pour les stades localement avancés, puis chute à 4% pour les stades métastatiques (5). La survie globale tous stades confondus à 5 ans est donc de l'ordre de 15% (3).

1.2 La biologie moléculaire, un tournant dans la caractérisation et le traitement des CBNPC : l'exemple d'*EGFR*

Outre la classification histologique des tumeurs pulmonaires, une nouvelle classification apparaît, notamment pour les CBNPC : la classification selon la biologie moléculaire des tumeurs. En effet, les CBNPC, comme toutes les tumeurs, résultent en partie d'une accumulation de mutations dans de nombreux gènes, dont des gènes suppresseurs de tumeurs et des proto-oncogènes. Certaines de ces mutations sont indispensables au développement et à la survie de la tumeur, et celle-ci en devient dépendante. On parle alors d'addiction oncogénique (6). Il a été découvert plusieurs mutations entraînant une addiction oncogénique au niveau de gènes appelés « drivers oncogéniques » dans le CBNPC : V-Ki-ras2 Kirsten rat

sarcoma viral oncogene homolog (*KRAS*), Epidermal growth factor receptor (*EGFR*), Anaplastic lymphoma kinase (*ALK*), ROS proto-oncogen 1 receptor tyrosine kinase (*ROS1*), B-Raf proto-oncogene serine/threonine kinase (*BRAF*), human epidermal growth factor receptor 2 (*HER2*), MET proto-oncogene receptor tyrosine kinase (*MET*) pour les plus fréquents. Ces mutations ne sont cependant pas équivalentes, et présentent des caractéristiques différentes. Les mutations *EGFR*, par exemple, sont retrouvées chez environ 11% des adénocarcinomes dans une population occidentale, préférentiellement chez les femmes, les non-fumeurs, et les personnes d'origine asiatique. Les mutations les plus fréquentes de l'*EGFR* sont les délétions de l'exon 19 (45%) et la mutation L858R de l'exon 21 (40 à 45%). Les autres mutations (duplication/insertion de l'exon 20, la mutation G719X de l'exon 18, la mutation L861Q de l'exon 21, la mutation T790M de l'exon 20) sont rares, et certaines peuvent apparaître secondairement (7). Les mutations d'*EGFR* interviennent pour la plupart au niveau du site tyrosine kinase de la protéine. Elles entraînent une activation constitutive du site, sans nécessité de dimérisation du récepteur secondaire à un signal extra-cellulaire. Cette activation constitutive entraîne une phosphorylation continue du récepteur, et l'activation de voies de signalisation d'aval en faveur d'une prolifération cellulaire, d'une résistance à l'apoptose et d'un phénotype métastatique. Des thérapies ciblées, des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), ont été développées spécifiquement pour cibler ces mutations oncogéniques, avec de très bons résultats. Les ITK se fixent de façon compétitive au site de fixation de l'ATP et inhibent ainsi la transduction du signal intra-cellulaire. Ils diffèrent entre eux selon leur génération : la 1^{ère} génération, comprenant l'Erlotinib et le Gefitinib, se fixe de façon réversible à la protéine EGFR seule, tandis la 2^{ème} génération, représentée par l'Afatinib, se fixe de façon irréversible à toutes les

protéines de la famille Human Epidermal Growth Factor Receptor (HER). L'Osimertinib, représentant de la 3^{ème} génération d'ITK, est un inhibiteur irréversible d'EGFR, et cible plus spécifiquement la mutation T790M.

L'Erlotinib a montré une survie sans progression nettement plus longue (13,1 mois [IC95% : 10,58 – 16,53]) qu'une chimiothérapie à type de doublet à base de sels de platine (4,6 mois [IC95% : 4,21 – 5,42], $P < 0,0001$) en 1^{ère} ligne chez les patients asiatiques traités pour un CBNPC avancé avec mutation *EGFR* (8). Les résultats sont similaires dans une population européenne : la survie sans progression était de 9,7 mois [IC95% 8,4 : – 12,3] dans le groupe Erlotinib, *versus* 5,2 mois [IC95% :4,5 – 5,8] ($P < 0,0001$) dans le groupe chimiothérapie (9). Le Gefitinib a également montré un bénéfice net en terme de survie sans progression (9,2 mois [IC95% : 8,0 – 13,9] vs 6,3 mois [IC95% : 5,8 – 7,8], $P < 0,0001$) (10), de même que l'Afatinib (11,1 mois vs 6,9 mois, Hazard Ratio (HR) : 0,58 [IC95% : 0,43 – 0,78], $P = 0,001$) (11).

Cependant, il est apparu que toutes les mutations d'*EGFR* ne répondent pas de manière équivalente aux thérapies ciblées : la délétion de l'exon 19 semble plus sensible aux ITK, quels qu'ils soient, que la mutation L858R (12). De même, les mutations rares d'*EGFR* sont moins sensibles aux ITK (13). Toutes les mutations d'*EGFR* n'ont donc pas le même poids, ni la même implication thérapeutique.

Contrairement aux mutations *EGFR*, aucune thérapie ciblée n'a montrée son efficacité contre les tumeurs mutées *KRAS*.

1.3 *KRAS* : une mutation fréquente dans le CBNPC

Le gène *KRAS* est situé sur le bras court du chromosome 12, et code pour la protéine du même nom. La protéine *KRAS* fait partie d'un groupe de petites

protéines liant le GTP : la superfamille RAS. Elle comporte 188 acides aminés, sa masse moléculaire est de 21,6kD, et elle se situe sur la face interne de la membrane plasmique. Elle se présente sous 2 formes : soit inactive par liaison à une guanosine diphosphate (GDP), soit active par liaison à une guanosine triphosphate (GTP). Elle possède une activité GTPase intrinsèque qui lui permet de passer de la forme active à la forme inactive, peu après la liaison du GTP. Une fois sous forme active, KRAS subit un changement conformationnel impliquant les domaines Switch 1 (acides aminés 30 à 38) et Switch 2 (acides aminés 59 à 67) et forme une boucle effectrice. Celle-ci va permettre par liaison directe l'activation de deux voies de signalisation principales : la voie des RAF/MAPKinases et la voie de PI3K/AKT, qui vont conduire notamment à des signaux de prolifération et de survie cellulaire. L'activité de KRAS est auto-régulée par son activité GTPase intrinsèque. En effet, la liaison de GTP à KRAS va activer des protéines activatrices de GTPase (GAP), qui vont majorer l'activité GTPase intrinsèque de KRAS. Cela permet la transformation rapide de GTP en GDP, l'inactivation de KRAS, et donc l'arrêt de signaux de transduction stimulant la prolifération et la survie cellulaire (14–16).

Les mutations de *KRAS* sont retrouvées dans environ 30% des adénocarcinomes pulmonaires, et préférentiellement chez les patients fumeurs ou ex-fumeurs (17,18). La grande majorité des mutations se trouvent au niveau de l'exon 2 du codon 12. Les autres mutations se situent dans le codon 13 et rarement au sein du codon 61. La mutation la plus fréquente est la mutation G12C, qui représente 49% des mutations *KRAS*. Les mutations G12V, G12D, G12A et G12S représentent respectivement 27%, 10%, 8% et 5% des tumeurs mutées *KRAS* (18). Ces polymorphismes nucléotidiques peuvent être regroupés en 2 catégories : les transitions, qui consistent en un remplacement d'une purine par une purine ou d'une pyrimidine par une

pyrimidine, et les transversions, qui consistent en un remplacement d'une purine par une pyrimidine et inversement. Pour les mutations des codons 12 et 13, les transitions sont G12D, G12S et G13D, tandis que les transversions sont G12C, G12V, G12R, G12A et G13C. Celles-ci sont en prévalence variable selon le statut tabagique du patient : les transitions sont plus fréquentes chez les non-fumeurs, tandis que les transversions sont plus fréquentes chez les fumeurs, notamment la transversion G>T (qui entraîne les mutations G12V et G12C) (15).

L'implication pronostique de la mutation *KRAS* est discutée. *KRAS* a pendant longtemps été considéré comme un facteur de mauvais pronostic, et cela a été confirmé en 2005 dans une méta-analyse de 43 études (HR : 1.40; p=0.01; HR: 1.5 pour les adénocarcinomes; P=0.02) (19). Une autre méta-analyse de 2013 regroupant 41 études confirme l'effet de mauvais pronostic de la mutation de *KRAS*, avec un HR à 1,45 [IC95% : 1.29–1.62], mais qui semble plus important pour les stades précoces (stades I à IIIa : HR=1,68 [IC95% : 1.11–2.55], *versus* stades IIIb-IV : HR1,3 [IC95% : 0,99-1,71]) (20). Des études ultérieures sur les adénocarcinomes de stade chirurgical confirment l'impact pronostique de la mutation *KRAS*. Izar *et al.* montrent que la présence d'une mutation *KRAS* est un facteur de mauvais pronostic indépendant, avec une survie globale (HR=4,36, [IC95% : 2,09 – 9,07], P<0,0001) et une survie sans récurrence (HR=3,62, [IC95% : 2,11 – 6,22], P<0,0001) plus courte en cas de mutation *KRAS* dans les adénocarcinomes de stade I (21). Les analyses de sous-groupes réalisées suggèrent par contre que les mutations *KRAS* ne sont pas équivalentes et que les mutations G12C et G12V sont de meilleur pronostic que les autres mutations *KRAS*. Bien qu'ils confirment *KRAS* comme étant un facteur de mauvais pronostic dans une étude rétrospective de 841 adénocarcinomes chirurgicaux, Renaud *et al.* mettent en évidence que la mutation

G12V est la plus délétère : les patients avec une tumeur mutée *KRAS* G12V ont la survie globale (26 mois vs 60 mois, $P < 0,0001$) et la survie sans récurrence (15 mois vs 24 mois, $P < 0,0001$) la plus courte, en comparaison au reste de la cohorte (22). A contrario, Shepherd *et al.*, en 2013, ne mettent pas en évidence d'implication pronostique de la mutation *KRAS* dans le cadre de CBNPC de stade précoce traités par chirurgie (23). Concernant les stades métastatiques, dans une étude de 2014 regroupant des adénocarcinomes de stade III et IV traités par chimiothérapie, la présence d'une mutation *KRAS* n'était pas défavorable, ni en terme de survie sans progression (SSP) ni de survie globale (SG) (24). Il semblait par contre qu'il existait une différence selon le type de mutation de *KRAS* : la mutation G12V était plus fréquente chez les non-fumeurs, avait un meilleur taux de réponse (66% vs 47%, $p = 0,077$) et une SSP plus longue (233 vs 175 jours, $p = 0,145$) que les autres mutations *KRAS* du codon 12, bien que les résultats ne soient pas significatifs. Cet impact de la spécificité de la substitution d'acides aminés avait déjà été soulevé par Ihle *et al.* en 2012 : ils avaient montré que les patients avec des tumeurs présentant une mutation *KRAS* G12C ou G12V avaient une survie sans progression sous chimiothérapie inférieure aux patients avec tumeurs présentant une autre mutation *KRAS* (1,84 mois vs 3,35 mois, $P = 0,046$) (25).

Presque toutes les mutations de *KRAS* interviennent sur 2 codons consécutifs, qui codent pour des acides aminés situés près du site de liaison de GTP. Ces mutations vont entraîner une diminution de l'activité GTPase intrinsèque de *KRAS*, et donc une activation constitutive des voies de signalisation d'aval. Cette activation constitutive a un effet direct, mais également un effet indirect par stimulation de l'angiogenèse, sur la prolifération cellulaire. En effet, dans une étude *in vitro*, Rak *et al.* montrent que les cellules mutées *KRAS* sur-expriment le vascular endothelial growth factor (*VEGF*),

mais les effets selon le type de substitution n'étaient pas décrits (26). D'autres études s'intéressent aux différences entre chaque substitution d'acides aminés, et notamment l'effet sur la liaison au GTP et l'activité de la GTPase. Cette dernière est très diminuée en présence d'une mutation G12V, avec une activité d'environ 10% par rapport au WT, et 25% en cas de mutation G12D. Quant à la liaison du GTP, elle est 8 fois plus faible en cas de mutation G12D que de mutation G12V ou de WT. La liaison forte de GTP au mutant G12V et la faible activité de la GTPase en présence de cette même mutation entrainerait un signal oncogénique plus fort et persistant (27). Il existe également une activation différentielle des voies de signalisation d'aval selon l'acide aminé substitué : la mutation G12D activerait les voies de signalisation PI3K et MEK, et les mutations G12C et G12V la voie de signalisation Ral (25). Ceci pourrait donc expliquer les différences constatées *in vivo* dans les études citées précédemment. Par ailleurs, la susceptibilité différente aux chimiothérapies en fonction de la substitution d'acide aminé est confirmée avec l'étude de Garassino *et al.* en 2011 : si les mutants G12D, G12C, G12V et WT ont la même croissance *in vitro*, ils n'ont pas la même réponse à la chimiothérapie (28). Les mutants G12V ont une sensibilité élevée au Cisplatine, alors que les mutants G12C y sont plutôt résistants. A l'inverse, la sensibilité au Taxol et au Pemetrexed est élevée pour les mutants G12C, alors qu'elle est franchement diminuée pour les mutants G12D concernant le Taxol, et légèrement diminuée pour les mutants G12V concernant le Pemetrexed. Le type de substitution d'acides aminés ne semble pas être le seul facteur influençant le comportement cellulaire : la localisation de la mutation, bien qu'à un codon d'écart, semble être déterminante (29). Les mutants du codon 12 ont un profil tumoral *in vitro* beaucoup plus agressif que les mutants du codon 13. Les mutants du codon 12 forment des grandes colonies *in vitro*, de grande densité, sans

signes d'apoptose, contrairement aux mutants du codon 13 qui présentent une apoptose 24 à 48h après confluence. Il existe donc chez les mutants du codon 12 un phénotype de résistance à l'apoptose, de perte d'inhibition de contact et de croissance indépendante de l'ancrage, via la voie de signalisation AKT/protéine kinase B.

Enfin, l'addiction oncogénique des tumeurs pulmonaires à *KRAS* n'est pas aussi évidente que pour d'autres mutations, comme *EGFR* ou *ALK*. Dans une étude *in vitro*, Singh et al. réalisent des *knock-out* de *KRAS* dans des lignées cellulaires dérivées de tumeurs humaines mutées *KRAS* (30). Certaines lignées cellulaires apparaissent alors indépendantes de *KRAS* pour leur viabilité : il s'agit de cellules peu différenciées, avec un phénotype plutôt mésenchymateux.

1.4 L'immunothérapie : un tournant de la prise en charge des CBNPC avancés

Le système immunitaire est en partie régulé par des récepteurs exprimés à la surface des cellules immunitaires, qui sont soit co-activateurs, soit co-inhibiteurs. Ces récepteurs, appelés points de contrôle, modulent l'activité des cellules immunitaires au quotidien et permettent de prévenir l'auto-immunité, tout en favorisant la réponse immunitaire en cas d'agression (infection ou tumeur par exemple). La cellule tumorale peut détourner ce système à son avantage, en sur-exprimant à sa surface les ligands des récepteurs co-inhibiteurs : c'est ce qu'on appelle l'échappement immunitaire.

La voie Programmed death 1 (PD1) / Programmed death-ligand 1 (PD-L1) est l'une de ces voies de rétrocontrôle du système immunitaire. Elle intervient tardivement, au

niveau de l'activation du lymphocyte T lors de sa phase effectrice au contact de la tumeur. Le récepteur PD1 est exprimé à la surface des lymphocytes T CD4+, CD8+ et régulateurs. Il a deux ligands : PD-L1 et PD-L2. Cette voie est souvent utilisée par les tumeurs : elles expriment PD-L1 à leur surface et ainsi bloquent la réponse immunitaire anti-tumorale.

L'utilisation d'anticorps anti-récepteurs ou anti-ligands de ces voies de contrôle, notamment de la voie PD1/PD-L1, va permettre de lever le rétrocontrôle négatif instauré par la cellule tumorale et restaurer une immunité anti-tumorale. C'est un des principes de l'immunothérapie. Dans le CBNPC, plusieurs inhibiteurs de points de contrôle ont été développés et ont montré leur efficacité.

Le Nivolumab est un anticorps anti-PD1, qui a montré son efficacité en 2^{ème} ligne de traitement. Dans une étude regroupant des patients suivis pour un CBNPC non-épidermoïde en progression après une ligne de chimiothérapie à base de sels de platine, le Nivolumab, en comparaison au Docetaxel, améliorait la survie globale (12,2 mois vs 9,4 mois, $p=0,002$), la survie à 1 an (51% [IC95% : 45-56] vs 39% [IC95% : 33-45%]), et le taux de réponse (19% vs 12%, $p=0,02$) (31). Un autre anticorps, cette fois-ci dirigé contre le ligand PD-L1, l'Atezolizumab, a également montré sa supériorité au Docetaxel en 2^{ème} ligne de traitement des CBNPC, avec une survie globale plus longue de 4 mois (13,8 mois versus 9,6 mois, $p=0,0003$) (32). Le Pembrolizumab, un anticorps anti-PD1, a démontré sa supériorité par rapport à la chimiothérapie en 2^{ème} ligne de traitement (33), mais également en 1^{ère} ligne pour les patients dont l'expression tumorale de PD-L1 est d'au moins 50% (34).

L'immunothérapie a donc changé profondément la prise en charge des patients atteints de CBNPC. Cependant, tous les patients ne bénéficient pas de ce traitement, et environ 20% seulement des patients auront une réponse prolongée sous

immunothérapie, quel que soit l'anticorps utilisé. Il existe donc des patients plus sensibles que d'autres, et il s'agit de déterminer qui sont ces patients. L'expression de PD-L1 par la tumeur a été suggérée comme marqueur pronostique entre les répondeurs et les non-répondeurs à l'immunothérapie. En effet, la plupart des essais cliniques montrent une différence de réponse entre les patients avec une tumeur exprimant fortement PD-L1, et ceux avec une tumeur négative pour le PD-L1. Dans l'essai OAK, les patients dont la tumeur exprimait PD-L1 à au moins 1% avait une survie globale sous Atezolizumab de 15,7 mois alors que ceux dont la tumeur était PD-L1 négative avait une survie globale 12,6 mois (32). Il semblerait que plus la tumeur exprime le PD-L1, plus elle est susceptible de répondre à l'immunothérapie, avec une relation plus ou moins linéaire, mais sans seuil défini (les seuils de 1%, 10%, 50% ont été utilisés pour décrire les tumeurs PD-L1 positives). Cependant, ce marqueur est imparfait, pour plusieurs raisons. D'une part, certains patients dont la tumeur est décrite comme PD-L1 négative répondent de manière prolongée à l'immunothérapie, alors que d'autres avec une tumeur fortement PD-L1 positive sont résistants d'emblée. D'autre part, l'expression de PD-L1 est hétérogène au sein d'une tumeur, et varie au cours du temps, en fonction des traitements déjà subis par les patients. La localisation de PD-L1 au sein même de la tumeur (au niveau de la marge invasive, au centre de la tumeur, sur les cellules immunitaires) pourrait influencer la réponse à l'immunothérapie. De plus, PD-L1 peut être exprimé à la surface des cellules tumorales soit en réponse adaptative à la pression immunitaire, soit par induction par une mutation oncogénique. La réponse à l'immunothérapie serait alors différente (35). Un autre marqueur de réponse à l'immunothérapie serait la charge mutationnelle de la tumeur. Plus la charge mutationnelle tumorale est élevée, plus la tumeur répondrait à l'immunothérapie : Singal *et al.* ont montré que

les patients ayant une tumeur avec une charge mutationnelle supérieure à 20 mutations par mégabase (Mb) ont une survie globale plus longue à partir du début de l'immunothérapie que ceux dont la tumeur a une charge mutationnelle basse (16,8 mois vs 8,5 mois, $p < 0,001$) (36). Cette moins bonne réponse à l'immunothérapie en cas de charge mutationnelle basse s'expliquerait par un manque de néo-antigènes immunogènes au sein de la tumeur, avec en conséquence un micro-environnement non inflammatoire et un profil de tumeur dite froide. La charge mutationnelle comme facteur pronostique soulève également des problèmes. D'une part, il n'y a pas actuellement de seuil pour définir une charge mutationnelle haute. D'autre part, il n'est pour l'instant pas non plus défini si la charge mutationnelle doit prendre en compte toutes les mutations introniques et exoniques, uniquement les mutations exoniques, ou les mutations non-synonymes exoniques, et sur quels gènes cela doit être réalisé. Il semble que l'implication pronostique soit différente en fonction de ce qui est inclus dans la charge mutationnelle, comme le suggèrent Rizvi *et al.* : si le Pembrolizumab semble plus efficace sur les tumeurs présentant un taux élevé de mutations somatiques non-synonymes, cela semble moins évident quand on tient compte de toutes les mutations exoniques (37). Plusieurs études ont montré que la charge mutationnelle est influencée par le tabagisme (son effet mutagène augmente la charge mutationnelle), et par la présence de mutations avec addiction oncogénique (35,36). En effet, la charge mutationnelle est moins élevée dans les tumeurs mutées pour *EGFR*, *ALK*, *ROS1* que dans les tumeurs wild-type (WT) pour ces gènes : les tumeurs *EGFR* présentaient 3,5 mutations/Mb, alors que les tumeurs WT en présentaient 7,8/Mb ($p < 0,001$). A contrario, les tumeurs mutées pour *KRAS* et *PIK3CA* présentaient une charge mutationnelle plus élevée : 8,4/Mb dans les tumeurs *KRAS* vs 6,1/Mb dans les tumeurs WT ($p < 0,001$). Les mutations avec

addiction oncogénique pourraient donc être un marqueur de réponse à l'immunothérapie.

1.5 Immunothérapie et driver oncogénique

Les analyses de sous-groupes réalisées au sein des essais cliniques sur l'immunothérapie suggèrent une réponse tumorale différente en fonction de la présence ou non d'un driver oncogénique. Ainsi, si le Nivolumab est plus efficace que le Docetaxel en 2^{ème} ligne de traitement des CBNPC, Borghaei *et al.* constatent que la SSP n'est pas identique dans tous les sous-groupes. Le Nivolumab n'était pas favorable en terme de SSP dans les sous-groupes *KRAS* WT, *EGFR* muté et non-fumeur (31). Cet effet de la présence d'un driver oncogénique sur la réponse à l'immunothérapie est encore discuté. Dans une cohorte italienne, il n'a pas été montré d'influence de la présence ou non d'une mutation *KRAS*, que ce soit en terme de SSP, de SG, ou de taux de réponse à l'immunothérapie comparé à la population *KRAS* WT. Cependant, le groupe *KRAS* muté était considéré comme une seule entité, et aucune analyse selon le type de substitution acide aminée n'a été réalisée (38). A contrario, dans la cohorte Immunotarget, les taux de réponses à l'immunothérapie différaient en fonction du driver oncogénique. Le taux de réponse médian était de 19%, allant de 26% pour le groupe *KRAS* muté, à 0% dans le groupe *ALK* muté, en passant par 17% pour le groupe *ROS1* muté et 12% pour le groupe *EGFR* muté. Il existait également des différences en terme de SSP et de SG. Des analyses ont été conduites en fonction de la substitution d'acides aminés. Dans le groupe *KRAS* muté, il n'existait pas de différence en terme de SSP si l'on comparait les mutations G12C ou G12D aux autres mutations *KRAS*, ni si l'on comparait les transitions aux transversions (2,9 mois vs 4 mois, P=0.27) (39). Une autre étude

rétrospective multi-centrique corrobore les résultats de la cohorte Immunotarget : la SSP sous immunothérapie était plus élevée pour le groupe *KRAS* muté vs *KRAS* WT (4,57 mois vs 1,63 mois, $p=0,004$), de même que le taux de réponse (16,1% vs 5,7%, $P=0,019$). Le taux de réponse était également plus élevé dans le groupe *EGFR/ALK/ROS1* WT que dans le groupe *EGFR/ALK/ROS1* muté, sans que cela ne soit significatif (10,5% vs 0%, $p= 0,287$) (40). Une récente méta-analyse, reprenant cinq essais cliniques, confirme cette différence de réponse à l'immunothérapie selon la présence ou non d'un driver oncogénique. La SG était prolongée dans le groupe immunothérapie (Nivolumab, Atezolizumab ou Pembrolizumab) par rapport au Docetaxel, mais cet effet n'était pas confirmé dans 2 sous-groupes : le groupe *EGFR* muté et le groupe *KRAS* WT (41).

La réponse favorable à l'immunothérapie en cas de mutation *KRAS* peut être lié à plusieurs mécanismes. D'une part, la mutation *KRAS* est plus souvent retrouvée dans une population de fumeurs ou ex-fumeurs. Or cette population présente une charge mutationnelle plus élevée, facteur de bonne réponse à l'immunothérapie, qu'une population de non-fumeurs (36). D'autre part, le micro environnement tumoral est influencé par la présence d'une mutation oncogénique. Chez la souris, les tumeurs adénocarcinomateuses ont un micro environnement tumoral riche en leucocytes, mais qui diffère selon la présence de mutation *EGFR* ou *KRAS* (42). Les tumeurs *KRAS* sont infiltrées par de multiples types cellulaires immuns : des lymphocytes CD8+, des lymphocytes T régulateurs (Treg), des lymphocytes producteurs d'IL17A et des cellules myéloïdes. Par rapport aux tumeurs *EGFR*, les tumeurs *KRAS* ont un taux de lymphocytes B au moins deux fois plus élevé, ainsi qu'un taux de lymphocytes T CD4+ et de Treg plus élevé. La localisation des cellules immunitaires est également variable selon la mutation oncogénique présente : les

tumeurs *EGFR* ont une pauci-infiltration immune comparé aux tumeurs *KRAS*. Cependant, cette étude chez la souris ne s'intéressait qu'à la mutation G12D de *KRAS*. Chez l'homme, Falk *et al.* se sont intéressés au micro-environnement tumoral, et l'influence des substitutions d'acide aminé de *KRAS* (43). Le mutant G12D présentait une infiltration tumorale plus importante de cellules CD66b+. Le mutant G12V avait un taux tumoral de PD-L1 plus élevé que celui des autres mutants *KRAS*, lui-même plus élevé que celui des tumeurs WT. Cette différence d'expression de PD-L1 en fonction de la présence d'une mutation *KRAS* avait déjà été montré par Chen *et al.* : la mutation *KRAS* majore l'expression de PD-L1 via la voie de signalisation ERK, et non pas par la voie Akt (44).

La présence d'une mutation *KRAS* semble donc favoriser la réponse à l'immunothérapie. Cet effet pourrait être variable selon le type de mutation *KRAS*.

II. OBJECTIF

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer la réponse à l'immunothérapie en fonction de la présence ou non d'une mutation *KRAS*, et plus particulièrement en fonction du type de substitution d'acide aminé chez des patients suivis pour un adénocarcinome pulmonaire métastatique ou localement avancé, en progression après au moins une ligne de chimiothérapie.

L'objectif secondaire est d'évaluer la réponse à l'immunothérapie en fonction de la substitution d'acide aminé de *KRAS* chez ces mêmes patients.

III. ARTICLE

Prognostic value of *KRAS* amino-acid substitutions mutations sub-types in recurrent lung adenocarcinomas treated by immunotherapy in a retrospective French cohort

Ruuth-Praz J¹, Seitlinger J², MD, MSc ; Guerrera F³, MD, MSc ; Tiotiu A¹, MD, PhD ; Scheid P⁴, MD ; Cervantes P⁵, MD ; Yguel C⁶, MD ; Vignaud JM⁶, MD, PhD ; Chabot F¹, MD, PhD ; Beau-Faller M⁷, MD, PhD ; Spicer J⁸, MD, PhD ; Renaud S⁹, MD, PhD

¹ Chest Department, Nancy University Hospital, France

² Department of thoracic surgery, Strasbourg University Hospital, France

³ Department of thoracic surgery, Turin University Hospital, Italy

⁴ Chest Department, Clinic of Gentilly, Nancy, France

⁵ Chest Department, Robert Schuman Hospital, Metz, France

⁶ Pathology Department, Nancy University Hospital, France

⁷ Department of biochemistry and molecular biology, Strasbourg University Hospital, France

⁸ Department of thoracic surgery. McGill University Hospital. Montreal, Canada

⁹ Department of thoracic surgery, Nancy University Hospital, France

3.1 ABSTRACT

Background : Identifying patients with recurrent lung adenocarcinomas who will respond to immunotherapy is a challenge. We aimed to evaluate if different Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (*KRAS*) mutations amino-acid substitutions are predictive of the response to immunotherapy.

Methods : Data from patients with recurrent stage III or stage IV molecularly tested lung adenocarcinomas, who underwent immunotherapy between 2015 and 2018, were retrospectively reviewed. Primary endpoints were overall survival (OS), time to progression (TP) and response according to RECIST criteria.

Results : Two hundred forty eight (36.8%) patients harboured *KRAS* mutation, while 426 (63.2%) were *KRAS* wild type (WT). Median OS and TTP were significantly better in *KRAS* patients (OS: 21 months; TTP: 15 months) compared to WT patients (OS: 13 months, $P=0.009$; TTP: 3 months, $P=0.01$). Patients with *KRAS* G12V and G12C showed better OS and TTP (G12V: OS: 28 months, TTP: 17 months; G12C: OS: 23 months, TTP: 11 months) than WT patients (OS: 13 months, $P<0.0001$; TTP: 3 months, $P<0.0001$). Response to immunotherapy was significantly higher in *KRAS* patients (27.9% vs 20.9%, $P=0.05$), particularly in G12C and G12V patients.

Conclusion: *KRAS* amino-acid substitutions may predict different responses to immunotherapy in recurrent lung adenocarcinomas.

Key words : metastatic NSCLC, *KRAS*, immunotherapy, molecular markers, amino-acid substitutions

3.2 BACKGROUND

Management of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) has dramatically changed in the last fifteen years, with the advent of molecular biology, targeted therapy and immunotherapy.

The programmed cell death-1 (PD-1) – programmed cell death ligand 1 (PD-L1) pathway is used by tumour cells to evade anti tumour response by down-regulating T-cell activation. The anti PD-1 monoclonal antibodies Nivolumab and Pembrolizumab, and the anti PD-L1 monoclonal antibody Atezolizumab are immune checkpoint inhibitors (ICI) targeting this PD-1/PD-L1 pathway, restoring T-cell activation and an immune response against tumour cells. In advanced NSCLC, several published trials have shown the superiority of ICI over chemotherapy in second-line treatment (1–3). ICI have become the new standard of care in second-line of treatment of NSCLC with no oncogenic addiction in patients with a Performance Status (PS) ≤ 1 . Pembrolizumab is also now the standard of care of first-line treatment of advanced NSCLC with a PD-L1 tumour proportion score $\geq 50\%$ and without mutations of *epidermal growth factor receptor (EGFR)* or *anaplastic lymphoma kinase (ALK)* in patients with a PS ≤ 1 (4).

However, the place of ICI in oncogene addicted NSCLC is not well defined. Mazières *et al.* showed in a retrospective study that in patients with NSCLC treated by ICI monotherapy, the response rate and the progression-free survival (PFS) were different according to the oncogenic driver alteration (5). In particular, *V-Ki-Ras2 Kirsten Rat Sarcoma 2 Viral Oncogene Homolog (KRAS)* mutation showed the best response rate and the second best PFS.

KRAS mutations are present in 30% of lung adenocarcinomas and 5% of lung squamous cell carcinomas (6,7). Its presence in tumours has long been considered as a poor prognostic factor (8,9). Indeed, even though it is an oncogenic driver, no targeted therapy against *KRAS* has, so far, showed a clinical advantage.

However, several *in vivo* and *in vitro* studies have shown a potential link between *KRAS* mutations, tumoral immune micro-environment, and response to immunotherapy. Though results are contradictory, several clinical studies showed that *KRAS* mutated tumours are better responders to immunotherapy with improved overall survival (10), longer PFS and better response rate (5). It is now known that *KRAS* mutations regroup a large variety of molecular entities with distinct amino-acid substitutions (AAS) that have different molecular and clinical behaviours. Mazières *et al.* attempted to evaluate the response to immunotherapy according to the AAS concluding to no difference between the various AAS (5).

Consequently, we aimed to assess the response to immunotherapy according to the presence of *KRAS* mutations, focusing to the specific AAS, in a large cohort of advanced lung adenocarcinomas.

3.3 Material and Methods

This study was approved by the Ethical Committee of the French Society of Thoracic and Cardiovascular Surgeons.

3.3.a Study design and patients' selection

This retrospective cohort was conducted on patients treated between 01/01/2015 and 31/12/2018, for stage III or stage IV NSCLC adenocarcinomas, in four French departments of chest oncology: Nancy University Hospital, Clinic of Gentilly – Nancy, Robert Schuman Hospital – Metz, and Strasbourg University Hospital.

Before initiation of systemic therapy, all patients underwent complete tumor staging including: fiber-optic bronchoscopy, chest and abdomen computed tomography (CT) scan, 18FDG-positron emission tomography (18PET)-scan, and brain CT-scan or magnetic resonance imaging (MRI). Majority of patients were finally staged according to the 8th edition of lung TNM classification. Within the period of inclusion, the TNM classification evolved from 7th to 8th edition of lung TNM classification. However, this did not change the main staging classification.

Pathological evidences of NSCLC adenocarcinoma were obtained in each departments of pathology by senior pathologists used to lung cancer. Tissue analysis was performed from primary lesion biopsies or from metastases obtained by endobronchial biopsies, endobronchial ultrasound (EBUS) fine needle aspiration, CT-guided biopsies, or surgical specimen.

Molecular analysis aiming at *KRAS* exon 2 (codon 12, 13 and 61) and *EGFR* (exons 18 to 21) were performed as previously described (11,12). Patients for whom mutational status for *EGFR* and *KRAS* was unknown were excluded from the study.

Wild type (WT) patients were defined as those harbouring no *EGFR* and *KRAS* mutations. The PD-L1 analysis was performed on the tumour tissue by immunohistochemistry. Each department of pathology used the anti-PD-L1 antibody they were used to. The result of the PD-L1 analysis was not required to the study.

All treatment decisions were made by a multidisciplinary board in presence of a certified thoracic oncologist. Eligible patients had to show tumour progression after at least one line of chemotherapy. They had to be treated by anti-PD-1 antibodies (Nivolumab 3mg/kg and then 240mg every 2 weeks, or Pembrolizumab 200mg every 3 weeks) or anti-PD-L1 antibodies (Atezolizumab 1200mg every 3 weeks), according to the choice of the local chest oncologist and expression of PD-L1. The patients received at least one injection of the ICI chosen. Patients with brain metastasis, treated or untreated by radiation therapy, were not excluded from this study.

3.3.b Data collection

Demographic data, World Health Organization (WHO) Performance status, smoking status, tumour stage according to the 8th TNM edition, histology, mutational status, oncological treatments, tolerance of ICI and survival were all collected from the computerised medical record of each centre. The Charlson comorbidity index (CCI) was calculated for each patient. We grouped patients into the following established categories according to their total score: 0 (no comorbidity); 1–2 (average); 3–4 (moderate); and ≥ 5 (severe) (13). Smoking status was characterised as never a smoker, <100 cigarettes in their lifetime, a former smoker, quit >1 year before diagnosis and a current smoker with an ongoing smoking habit or who quit <1 year before diagnosis.

3.3.c Response assessment

Treatment efficacy was evaluated by CT-scan according the RECIST 1.1 criteria or by PET-scan according the PERCIST criteria. Every tumour progression was confirmed by a multidisciplinary meeting. Patients with stable or decreased tumour were pooled in the “response group”, whereas patient with tumour worsening were grouped in “non-response group”.

3.3.d Endpoints

The primary endpoints were overall survival (OS), time to progression (TTP) and response to immunotherapy. OS was defined as the time-period elapsed between the first day of immunotherapy treatment and to the date of death of any cause. Patients still alive or lost at the time of the last follow-up were censored. Time to progression was defined as the time between first day of immunotherapy treatment to the date of disease progression or death. Adverse events related to ICI were reported and classified according to the National Cancer Institute Common Toxicity Criteria Adverse Event (4.0) grade.

3.3.e Statistical analysis

Variables were described using position and dispersion statistics as the mean and standard deviation values and as percentages for qualitative variables. Comparisons among groups were performed using chi-square tests or Fisher’s non-parametric test for proportions, depending on theoretical effectiveness. To check for a Gaussian distribution, the Shapiro test for normality was used. ANOVA tests or non-parametric Kruskal-Wallis tests were used to compare numerical data. The association of each factor with the survival of patients was modelled by first using Kaplan-Meier graphs

and then associated univariate Cox proportional hazard models. P values were estimated by likelihood type III tests in models. Coefficients were also used to estimate hazard ratios within 95% confidence intervals.

Those variables for which univariate P values were less than 0.20 were then analysed using a multivariate Cox regression. A backward stepwise variable selection was performed to avoid redundant information. A multivariate analysis with stepwise logistic regression to predict response to immunotherapy was performed for *P*-values <0.2 in the univariate analysis.

The results are presented as hazard ratios fitted from the multivariate final model.

All statistical tests were two-tailed and P values of <0.05 were considered significant.

All analyses were performed using IBM SPSS v25 (Chicago, Illinois, USA).

3.4 RESULTS

3.4.a Clinical and molecular characteristics

Out of the 674 included patients, 426 (63.2%) were WT patients, and 248 (36.8%) harboured a *KRAS* mutation. The median age at time of lung cancer diagnosis was 64.04 years old (IQR: 11.56). The population was mainly composed by male (65.9%) and former or active smokers (91.9%). Molecular analysis revealed *KRAS* mutations in 36.8% of the cohort, mainly located in exon 2 codon 12 (96.8%). Transversions were most frequently observed (85.5%), with high proportions of G12C (45.2%) and G12V (24.2%) AAS.

The whole cohort underwent chemotherapy before immunotherapy treatment, with a median number of chemotherapy lines of 1 (IQR: 1). Median number of immunotherapy injection for the whole cohort was 6 (IQR: 11.25). Median number of lines of post-immunotherapy chemotherapy was 1 (IQR: 1). The tolerance of immunotherapy was similar in both groups, and no adverse event was reported in more than 70% of the cohort.

Data are disclosed in table 1.

3.4.b Overall survival

The median OS for the whole cohort was 15 months (95% CI: 13.28 – 16.73) with corresponding 1-y, 2-y and 3-y OS of 58%, 36% and 17%, respectively.

In univariate analysis, median OS was significantly better in patients harbouring *KRAS* mutations compared to *KRAS* WT patients (21 months (95% CI: 16.52 – 25.48) vs 13 months (95% CI: 11.2 – 14.8), $P=0.009$) (Fig 1). Meanwhile *KRAS*

codon 12 mutations (21 months (95% CI: 16.42 – 25.58)) and transversions (23 months (95% CI: 17.09 – 28.91)) were associated with better OS than WT *KRAS* (13 months (95% CI: 11.2 – 14.8)), *KRAS* codon 13 mutations and transitions were associated with worse OS (1 month and 5 months (3.54 – 6.46), $P<0.0001$ and $P=0.02$, respectively). The median OS was significantly impacted by *KRAS* AAS: median OS was 13 months (95% CI: 11.2 – 14.8) for WT *KRAS*, reached 23 months for G12C (95% CI: 19.71 – 26.29) and 28 months for G12V (95% CI: 19.75 – 36.25), whereas it decreased to 5 months (95% CI: 3.61 – 6.38) for G12D, 1 month for both G12F and G13C, and 3 months for G13D (95% CI: 11.2 – 14.8) ($P<0.0001$).

In multivariate analysis, the type of *KRAS* AAS was still a significant prognostic factor of survival ($P<0.0001$).

Data are disclosed in table 2.

3.4.c Time to progression

The median TTP for the whole cohort was 12 months (95% CI: 10.12 – 13.88) with corresponding 1-y, 2-y, and 3-y progression free survival of 48%, 33% and 9%, respectively.

When analysed according to mutational status, median TTP was significantly better in case of *KRAS* mutations (15 months (95% CI: 11.89 – 18.11) vs 3 months (95% CI: 1.72 – 4.28), $P=0.01$) (Figure 2).

In univariate analysis, *KRAS* codon 12 mutations (4 months (95% CI: 2.73 – 5.26)) and transversions (5 months (95% CI: 1.3 – 8.7)) were associated with better TTP than WT *KRAS* (3 months (95% CI: 1.72 – 4.28), $P<0.0001$ and $P=0.009$, respectively) ; whereas *KRAS* codon 13 mutations and transitions were associated

with worse TTP (0 month, and 2 months (95% CI: 1.69 – 2.3), $P < 0.0001$ and $P = 0.009$, respectively).

The median TTP was significantly impacted by *KRAS* AAS: G12V (17 months (95% CI: 14.75 – 24.12)) and G12C (11 months (95% CI: 6.86 – 15.14)) mutations showed better median TTP than WT *KRAS* (3 months (95% CI: 1.72 – 4.28), $P < 0.0001$). The other less frequent *KRAS* mutations all showed a worse median TTP of 2 months or less.

In multivariate analysis, the type of *KRAS* AAS was still a significant prognosis factor of survival ($P < 0.0001$).

Data are disclosed in table 3.

3.4.d Response to immunotherapy

Response to immunotherapy was assessable for 619 patients (91.7%). At the end of the follow-up 145 patients (21.5%) experienced a response to immunotherapy.

In univariate analysis, the probability of responding to immunotherapy was significantly higher in case of *KRAS* mutations compared to WT patients (27.9% vs 20.9%, $P = 0.05$; OR: 2.62 (95% CI: 1.76 – 4.62), $P = 0.03$). In subgroup analysis, *KRAS* codon 12 mutations and transversions were better responder to immunotherapy (OR: 2.37 (95% CI: 1.20-4.68), $P = 0.017$, and OR: 2.23 (95% CI: 1.68-4.63), $P = 0.02$, respectively). *KRAS* codon 13 mutations and transitions showed no difference compared to *KRAS* WT. The response to immunotherapy was significantly impacted by *KRAS* AAS. Indeed, compared to WT patients, G12V (OR: 5.75 (95% CI: 2.29 – 8.30), $P = 0.02$) and G12C (OR: 4.33 (95% CI: 2.23 – 8.80), $P = 0.01$) experienced a better response, whereas G12A had a worse response (OR:

0.69 (95% CI: 0.55 – 0.79), P=0.04). These results were confirmed in the multivariate analysis (P<0.0001).

Data are disclosed in table 4

3.5 DISCUSSION

This study adds more data to the literature underlining the value of *KRAS* mutations studies, in particular ensuing AAS, to predict response to immunotherapy in advanced NSCLC. Very recently, Mazières *et al.* showed in a retrospective multi-centre study based on 551 patients with stage IV NSCLC and known oncogenic driver mutations, that objective response rate (ORR) was higher in the 271 patients harbouring *KRAS* mutations (26%) (5). Furthermore, they concluded that PFS was the best in the subgroup of *KRAS*-mutated patients and was positively associated to PDL-1 expression in this subgroup of patients. Our results are in line with this publication. Indeed, meanwhile ORR reached 28% in the *KRAS*-mutated subgroup of patients, both PFS and OS were better in case of *KRAS* mutations. To the best of our knowledge, our study is so far the largest published clinical study on the impact of *KRAS* mutations on response to immunotherapy. Several hypotheses have so far been advanced to explain the better outcomes of immunotherapy in patients with *KRAS* mutations. The principle mechanisms mentioned include direct upregulation of PD-L1, tumour mutational burden (TMB) and tumour infiltrating lymphocytes (TILs) that are related to *KRAS* mutations.

On both lung cancer cell lines and human tissues, Chen *et al.* have shown that PD-L1 was upregulated by *KRAS* through p-ERK downstream signalling (14). More, TMB leads to a higher neo-antigen load on the tumour, and therefore a higher chance of stimulating an immune reaction to the antigens expressed on the tumor cell surface and recognizable by a cytotoxic T-cell (15). Recently, TMB was confirmed in a randomised clinical trial to be a powerful predictive biomarker, independent of PD-L1 expression, in NSCLC patients treated with the single agent PD-1 inhibitor nivolumab, and also in studies combining the PD-1 and CTLA-4 inhibitors, nivolumab

and ipilimumab (16,17). Naqash *et al.*, in a large dataset of 1317 stage IV NSCLC, highlighted that co-occurrence of *KRAS/TP53* mutations (occurring in nearly 50% of *KRAS* mutants) was associated to a significant higher expression of PD-L1 (with 52% having a PDL-1 expression > 50%), and higher median TMB (14.5 vs 9, $P < 0.001$), compared to *KRAS*⁺/*TP53*⁻ (18). Even in the *KRAS/TP53* mutated PD-L1 negative group, the frequency of TMB was significantly higher compared to *KRAS*⁺/*TP53*⁻ group (86.5% vs 41.5%, $P < 0.001$). Other subgroups of *KRAS* mutations are defined according to other co-mutations (i.e. *STK11/LKB1* and *CDKN2A/B*). These co-mutations are known to be predictive to anti PD-1/PD-L1 targeted therapies since they modulate their immune micro-environment (19–21). Further studies are necessary to evaluate their impact on TMB.

On the other hand, TILs are important prognostic biomarkers in NSCLC. Indeed, Brambilla *et al.* showed that intense lymphocytic infiltration of the tumour predicted longer survival in patients with NSCLC (22). These data were recently confirmed by Mignon *et al.* on 152 NSCLC tumour samples (23). The authors observed that median OS was significantly longer in patients with high stromal TIL infiltration compared to patients with low stromal TILs infiltration, which was most frequent in *KRAS* mutated tumours. Among TILs, it has been clarified that CD3⁺ and CD8⁺ TILs are associated with better outcomes in NSCLC (24). In melanoma patients, it has been shown that the CD8⁺ T cell density at the invasive tumour edge was correlated with the response to anti-PD-1 (25). Previous studies on lung cancers have shown key differences in infiltrating immune cells according to oncogenic driver mutation (26,27). In particular, they showed that *KRAS*-mutant tumours displayed a significant expansion of multiple immune cell types, including CD8⁺ cells, in contrast with *EGFR*

mutants who failed to induce a CD8+ immune response, providing more arguments on the better efficacy of immunotherapy in *KRAS*-mutant tumours.

However, this does not explain the different responses between the various AAS. Since the observation in 2011 by Garassino *et al.* that *KRAS* G12C was associated with a reduced response to cisplatin and increased sensitivity to taxol and pemetrexed in NSCLC cell lines, whereas the G12V mutation was more resistant to pemetrexed, several authors have focused on the heterogeneity of *KRAS* mutations (28). Following this observation, Ihle *et al.* observed that distinct AAS might activate different signaling pathways (29). Indeed, both *KRAS* G12C and G12V mutations exhibited activated Ral signaling and decreased growth factor-dependent Akt activation, while the G12D mutation exhibited activated PI3K and MEK signaling. More recently, Singh *et al.* reported the existence of two distinct groups of *KRAS*-mutated cell lines: one dependent on the *KRAS* mutations, and one that was not (30). The heterogeneity around *KRAS* mutations has further increased recently. Indeed, previous authors have also shown that 3 major subgroups of *KRAS*-mutant NSCLC adenocarcinomas are defined by the coexistence of other genetic alterations: *STK11/LKB1*, *TP53* and *CDKN2A/B* (19). This molecular heterogeneity was reflected by different clinical behaviors (11) or response to chemotherapy (31) and radiotherapy (32) according to the AAS. In the field of response to immunotherapy, a study performed on 108 NSCLC harboring *KRAS* mutations explored the heterogeneity linked to AAS, focusing on G12C, G12D and G12V mutations (27). The authors concluded that PD-L1 expression was significantly different according to the type of AAS (8% for G12C, 5.3% for G12D and 12.9% for G12V). Although we were not able to evaluate the level of PD-L1 expression in our cohort, these results at least partially support the best ORR observed in our cohort for G12C and G12V

mutations. According to published evidences, it does not seem unrealistic to speculate that the different downstream signaling, according to *KRAS* AAS, may or may not up-regulate the tumor PD-L1 expression. However, this may not be the only explanation for the better answer of *KRAS*-mutated cells to immunotherapy. Indeed, the impact of the AAS on up-regulation of PD-L1, the TMB, co-genetic mutations and TILs may intricate to modify response to immunotherapy. Nevertheless, to the best of our knowledge, so far, our study is the largest on one the impact of AAS on response to immunotherapy.

However, our study has some few limitations that should be taken into account in a cautious interpretation. First, it is a retrospective cohort study. However, the large sample size and the multi-institutional character strengthen the study making generalization of the results easier. Second, data on other co-genetic mutations, which could influence the behaviour of cancer cells, were not available. Finally, we were not able to collect data on PD-L1 value for the whole cohort. It would be highly interesting to study the aforementioned points in further prospective studies.

In conclusion, this is the largest published series on the impact of *KRAS* AAS on response to immunotherapy. Our results emphasize the crucial role of molecular biology in the treatment choice of lung adenocarcinoma, and particularly the importance of knowing the specific AAS in case of mutation. The better response of *KRAS* mutant cancer cells to immunotherapy seem to be multifactorial implying different downstream signalling according to AAS, co-genetic mutations, TMB, and TILs. Considering the very promising results of immunotherapy in the management of advanced NSCLC, further molecular and clinical studies are more than required in order to elucidate the mechanisms of response to immunotherapy of *KRAS*-mutated

cells. Thus, not only offering new hope to patients harbouring *KRAS* mutations, but also defining more properly patients who would benefit from immunotherapy.

3.6 ADDITIONAL INFORMATION

This study was approved by the Ethical Committee of the French Society of Thoracic and Cardiovascular Surgeons.

Data availability: Computed data are available from the last author, Prof. Stéphane Renaud

Conflict of interest: none.

Fundings: none.

Acknowledgements: none.

Authors' contributions : S. Renaud, F. Chabot and A. Tiotiu had the original idea, and helped design the study. J. Ruuth-Praz and J. Seitlinger collected the data. F. Guerrera did the statistical work. J. Ruuth-Praz and S. Renaud wrote the manuscript.

3.7 REFERENCES

1. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 oct 2015;373(17):1627-39.
2. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 9 avr 2016;387(10027):1540-50.
3. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 21 2017;389(10066):255-65.
4. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 10 2016;375(19):1823-33.
5. Mazières J, Drilon A, Lusque A, Mhanna L, Cortot AB, Mezquita L, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 24 mai 2019;
6. Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature*. 23 oct 2008;455(7216):1069-75.
7. Porta M, Crous-Bou M, Wark PA, Vineis P, Real FX, Malats N, et al. Cigarette smoking and K-ras mutations in pancreas, lung and colorectal adenocarcinomas:

etiopathogenic similarities, differences and paradoxes. *Mutat Res.* déc 2009;682(2-3):83-93.

8. Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer.* 17 janv 2005;92(1):131-9.

9. Meng D, Yuan M, Li X, Chen L, Yang J, Zhao X, et al. Prognostic value of K-RAS mutations in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *Lung Cancer Amst Neth.* juill 2013;81(1):1-10.

10. Kim JH, Kim HS, Kim BJ. Prognostic value of KRAS mutation in advanced non-small-cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and review. *Oncotarget.* 18 juill 2017;8(29):48248-52.

11. Renaud S, Falcoz P-E, Schaëffer M, Guenot D, Romain B, Olland A, et al. Prognostic value of the KRAS G12V mutation in 841 surgically resected Caucasian lung adenocarcinoma cases. *Br J Cancer.* 20 oct 2015;113(8):1206-15.

12. Renaud S, Seitlinger J, Guerrera F, Reeb J, Beau-Faller M, Voegeli A-C, et al. Prognostic Value of Exon 19 Versus 21 EGFR Mutations Varies According to Disease Stage in Surgically Resected Non-small Cell Lung Cancer Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol.* avr 2018;25(4):1069-78.

13. Charlson ME, Ales KL, Simon R, MacKenzie CR. Why predictive indexes perform less well in validation studies. Is it magic or methods? *Arch Intern Med.* déc 1987;147(12):2155-61.

14. Chen N, Fang W, Lin Z, Peng P, Wang J, Zhan J, et al. KRAS mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother Cll.* sept 2017;66(9):1175-87.

15. Forde PM, Chaft JE, Pardoll DM. Neoadjuvant PD-1 Blockade in Resectable Lung Cancer. *N Engl J Med.* 30 2018;379(9):e14.
16. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 22 2017;376(25):2415-26.
17. Hellmann MD, Ciuleanu T-E, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med.* 31 mai 2018;378(22):2093-104.
18. Naqash AR, Walker PR, Muzaffar M, Feldman R, Hafiz M, Liu SV, et al. Tumor mutational burden (TMB) profile of K-RAS/TP-53 co-mutation in metastatic non-small cell lung cancer (m-NSCLC). *J Clin Oncol.* 20 mai 2019;37(15_suppl):2626-2626.
19. Skoulidis F, Byers LA, Diao L, Papadimitrakopoulou VA, Tong P, Izzo J, et al. Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov.* août 2015;5(8):860-77.
20. Dong Z-Y, Zhong W-Z, Zhang X-C, Su J, Xie Z, Liu S-Y, et al. Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 juin 2017;23(12):3012-24.
21. Calles A, Liao X, Sholl LM, Rodig SJ, Freeman GJ, Butaney M, et al. Expression of PD-1 and Its Ligands, PD-L1 and PD-L2, in Smokers and Never Smokers with KRAS-Mutant Lung Cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* déc 2015;10(12):1726-35.
22. Brambilla E, Le Teuff G, Marguet S, Lantuejoul S, Dunant A, Graziano S, et al. Prognostic Effect of Tumor Lymphocytic Infiltration in Resectable Non-Small-Cell

Lung Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 avr 2016;34(11):1223-30.

23. Mignon S, Willard-Gallo K, Van den Eynden G, Salgado R, Decoster L, Marien KM, et al. The Relationship Between Tumor-Infiltrating Lymphocytes, PD-L1 Expression, Driver Mutations and Clinical Outcome Parameters in Non-Small Cell Lung Cancer Adenocarcinoma in Patients with a Limited to no Smoking History. *Pathol Oncol Res POR*. 21 juin 2019;

24. Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, McLaughlin J, Velcheti V, Syrigos KN, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. mars 2015;107(3).

25. Topalian SL, Taube JM, Anders RA, Pardoll DM. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(5):275-87.

26. Busch SE, Hanke ML, Kargl J, Metz HE, MacPherson D, Houghton AM. Lung Cancer Subtypes Generate Unique Immune Responses. *J Immunol Baltim Md 1950*. 01 2016;197(11):4493-503.

27. Falk AT, Yazbeck N, Guibert N, Chamorey E, Paquet A, Ribeyre L, et al. Effect of mutant variants of the KRAS gene on PD-L1 expression and on the immune microenvironment and association with clinical outcome in lung adenocarcinoma patients. *Lung Cancer Amst Neth*. 2018;121:70-5.

28. Garassino MC, Marabese M, Rusconi P, Rulli E, Martelli O, Farina G, et al. Different types of K-Ras mutations could affect drug sensitivity and tumour behaviour in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. janv 2011;22(1):235-7.

29. Ihle NT, Byers LA, Kim ES, Saintigny P, Lee JJ, Blumenschein GR, et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling

and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst.* 8 févr 2012;104(3):228-39.

30. Singh A, Greninger P, Rhodes D, Koopman L, Violette S, Bardeesy N, et al. A gene expression signature associated with « K-Ras addiction » reveals regulators of EMT and tumor cell survival. *Cancer Cell.* 2 juin 2009;15(6):489-500.

31. Renaud S, Guerrero F, Seitlinger J, Reeb J, Voegeli A-C, Legrain M, et al. KRAS-specific Amino Acid Substitutions are Associated With Different Responses to Chemotherapy in Advanced Non-small-cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer.* 2018;19(6):e919-31.

32. Renaud S, Schaeffer M, Voegeli A-C, Legrain M, Guérin E, Meyer N, et al. Impact of EGFR mutations and KRAS amino acid substitution on the response to radiotherapy for brain metastasis of non-small-cell lung cancer. *Future Oncol Lond Engl.* janv 2016;12(1):59-70.

3.8 TABLES

Table 1. Main clinical and molecular characteristics of the population

	<i>KRAS</i> Wild Type	<i>KRAS</i> Mutant	P
n	426	248	
Median age	65.27 (IQR: 12.22)	62.12 (IQR: 9.26)	0.56
<i>KRAS</i> codon 12	----	239 (96.4%)	----
<i>KRAS</i> codon 13	----	9 (3.6%)	
<i>KRAS</i> AAS			
G12A		28 (11.3%)	
G12C		112 (45.2%)	
G12D		32 (12.9%)	
G12F		8 (3.2%)	----
G12V		60 (24.2%)	
G13C		4 (1.6%)	
G13D		4 (1.6%)	
Gender			
Male	282 (66.2%)	160 (64.5%)	0.66
Female	144 (33.8%)	88 (35.5%)	
WHO performance status			
0	222 (52.1%)	104 (41.9%)	0.001
1	192 (45.1%)	124 (50%)	
2	12 (2.8%)	16 (6.5%)	
3	0	4 (1.6%)	
CCI			
1	0	4 (1.6%)	0.03
2	60 (14.1%)	32 (12.9%)	
3	366 (85.9%)	212 (85.5%)	
Smoking habit			
Non-smoker	48 (11.4%)	4 (1.6%)	<0.0001
Former / Active smoker	372 (88.6%)	244 (98.4%)	
Disease stage			
III	24 (5.6%)	36 (14.5%)	<0.0001
IV	402 (94.4%)	212 (85.5%)	
Brain metastasis			
No	270 (63.4%)	196 (79%)	<0.0001
Yes	156 (36.6%)	52 (21%)	
Number of CT lines before immunotherapy			
	1 (IQR: 1)	1 (IQR: 1)	0.55
Number of immunotherapy injections			
	6 (IQR: 10.2)	6 (IQR: 10.75)	0.76
Number of CT lines after immunotherapy			
	1 (IQR: 1)	0 (IQR: 1)	0.001
Grade adverse events			
0	318 (74.6%)	176 (72.1%)	0.26
1	24 (5.5%)	16 (6.6%)	
2	36 (8.5%)	28 (11.5%)	
3	42 (9.9%)	24 (9.8%)	
4	6 (1.4%)	0	

IQR: interquartile range, AAS: amino-acid substitutions, WHO: World Health Organization, CCI: Charlson Comorbidity Index, CT: chemotherapy, Immuno: immunotherapy. Data are provided as n(%) or median (IQR)

Table 2. Uni- and multivariate analysis on overall survival

	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Median OS (months) (95% CI)	P	Hazard Ratio (95% CI)	P
Age ≤ 64.04 years old	13 (10.73 – 15.28)	0.1	----	0.46
Age > 64.04 years old	17 (13.89 – 20.11)			
Gender		0.32	----	----
Male	14 (12.23 – 15.77)			
Female	17 (12.57 – 21.43)			
WHO performance status		<0.0001	0.099 (0.026 – 0.377)	<0.0001
0	17 (14.19 – 19.81)			0.001
1	16 (14.06 – 17.94)			0.001
2	1 (0.65 – 1.355)			0.17
3	1		1	
CCI		<0.0001	----	0.12
1	17 (8.45 – 25.55)			
2	14 (12.07 – 15.93)			
3	1			
Smoking habit		0.001	----	0.37
Non-smoker	Not reached			
Former/Active smoker	14 (12.34 – 15.65)			
Disease stage		0.01	----	0.12
III	23 (18.46 – 27.54)			
IV	14 (11.99 – 16)			
Brain metastasis		0.04	----	0.33
Yes	11 (8.48 – 13.52)			
No	16 (13.88 – 18.12)			
Number of CT lines before immunotherapy*		0.19	----	0.22
1	13 (10.64 – 15.36)			
> 1	16 (13.29 – 18.71)			
Number of immunotherapy injections*		<0.0001	5.054 (2.906 – 8.79)	<0.0001
≤ 6	6 (5.04 – 6.96)			
> 6	26 (23.07 – 28.94)		1	
Number of CT lines after immunotherapy*		<0.0001	3.552 (1.824 – 6.918)	<0.0001
1	8 (6.5 – 9.5)			
> 1	21 (19 – 22.99)		1	
KRAS codon 12	21 (16.42 – 25.58)	<0.0001	----	----
KRAS codon 13	1			
WT KRAS	13 (11.2 – 14.8)			
KRAS		0.02	----	----
Transversions	23 (17.09 – 28.91)			
Transitions	5 (3.54 – 6.46)			
WT KRAS	13 (11.2 – 14.8)			
KRAS AAS		<0.0001	----	----
G12A	3 (1.72 – 4.28)			
G12C	23 (19.71 – 26.29)			
G12D	5 (3.61 – 6.38)			
G12F	1			
G12V	28 (19.75 – 36.25)			
G13C	1			
G13D	3			
WT KRAS	13 (11.2 – 14.8)			
KRAS AAS		<0.0001	1.733 (0.929 – 3.234)	<0.0001
G12A	3 (1.72 – 4.28)			0.084
G12C	23 (19.71 – 26.29)			0.238 (0.1 – 0.568)
G12D	5 (3.61 – 6.38)			0.705 (0.416 – 1.195)
G12V	28 (19.75 – 36.25)			0.214 (0.088 – 0.493)
Others (G12F, G13C, G13D)	1			2.835 (1.632– 3.447)
WT KRAS	13 (11.2 – 14.8)		1	

CCI: Charlson Comorbidity Index, HR: Hazard Ratio, CI: Confidence Interval, Immuno: immunotherapy, WT: wild type, CT: chemotherapy, *: median was taken as the cut-off value, AAS: amino-acid substitutions. Because *KRAS* AAS and *KRAS* codon mutations were correlated (Cramer's V: 0.695, $P < 0.0001$), as well as *KRAS* transversions/transitions and *KRAS* AAS (Cramer's V: 0.722, $P < 0.0001$) only *KRAS* AAS was entered in the multivariate Cox model. Because of the small sample size for *KRAS* G12F, G13C and G13D, they were pooled all together in the multivariate analysis. Bold values were used to highlight significant variables.

Table 3. Uni- and multivariate analysis on time to progression

	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Median PFS (months) (95% CI)	P	Hazard Ratio (95% CI)	P
Age ≤ 64.04 years old	10 (7.47 – 12.53)	0.03	1	0.003
Age > 64.04 years old	14 (11.51 – 16.49)		0.718 (0.578 – 0.891)	
Gender				
Male	10 (7.24 – 12.76)	0.14	----	0.56
Female	12 (8.73 – 15.27)			
Smoking habit				
Non-smoker	12 (8.47 – 15.53)	0.85	----	0.37
Former/Active smoker	12 (9.81 – 14.19)			
Disease stage				
III	14 (11.86 – 16.14)	0.22	----	0.12
IV	11 (8.92 – 13.08)			
Brain metastasis				
Yes	10 (7.03 – 12.97)	<0.0001	1	0.02
No	13 (10.96– 15.04)		0.727 (0.556 – 0.95)	
Number of CT lines before immunotherapy*				
1	10 (7.92 – 12.08)	<0.0001	1.455 (1.178 – 1.797)	0.001
>1	14 (10.35 – 17.65)		1	
Number of immunotherapy injections*				
≤ 6	2 (1.69 – 2.31)	<0.0001	2.668 (2.109 – 3.375)	<0.0001
> 6	20 (16.16 – 23.84)		1	
Number of CT lines after immunotherapy*				
1	6 (3.71 – 8.3)	0.007	----	0.17
> 1	13 (5.18 – 20.82)			
<i>KRAS</i> codon 12	4 (2.73 – 5.26)	<0.0001	----	----
<i>KRAS</i> codon 13	0			
WT <i>KRAS</i>	3 (1.72 – 4.28)			
<i>KRAS</i>				
Transversions	5 (1.3 – 8.7)	0.009	----	----
Transitions	2 (1.69 – 2.3)			
WT <i>KRAS</i>	3 (1.72 – 4.28)			
<i>KRAS</i> AAS				
G12A	1 (0.46 – 1.54)	<0.0001	----	----
G12C	11 (6.86 – 15.14)			
G12D	2 (1.69 – 2.3)			
G12F	0			
G12V	17 (14.75 – 24.12)			
G13C	0			
G13D	1			
WT <i>KRAS</i>	3 (1.72 – 4.28)			
<i>KRAS</i> AAS				<0.0001
G12A	1 (0.46 – 1.54)	<0.0001	3.901 (2.266 – 6.716)	<0.0001
G12C	11 (6.86 – 15.14)		1.719 (1.252 – 2.359)	0.001
G12D	2 (1.69 – 2.3)		3.226 (2.056 – 5.063)	<0.0001
G12V	17 (14.75 – 24.12)		1	
Others (G12F, G13C, G13D)	1		5.187 (2.454– 10.96)	<0.0001
WT <i>KRAS</i>	3 (1.72 – 4.28)		2.625 (1.795 – 3.841)	<0.0001

CCI: Charlson Comorbidity Index, HR: Hazard Ratio, CI: Confidence Interval, Immuno: immunotherapy, WT: wild type, CT: chemotherapy, *: median was taken as the cut-off value, AAS: amino-acid substitutions. Because *KRAS* AAS and *KRAS*

codon mutations were correlated (Cramer's V: 0.695, $P < 0.0001$), as well as *KRAS* transversions/transitions and *KRAS* AAS (Cramer's V: 0.722, $P < 0.0001$) only *KRAS* AAS was entered in the multivariate Cox model. Because of the small sample size for *KRAS* G12F, G13C and G13D, they were pooled all together in the multivariate analysis. Bold values were used to highlight significant variables.

Table 4: Uni- and multivariate analysis on response to immunotherapy according to RECIST criteria

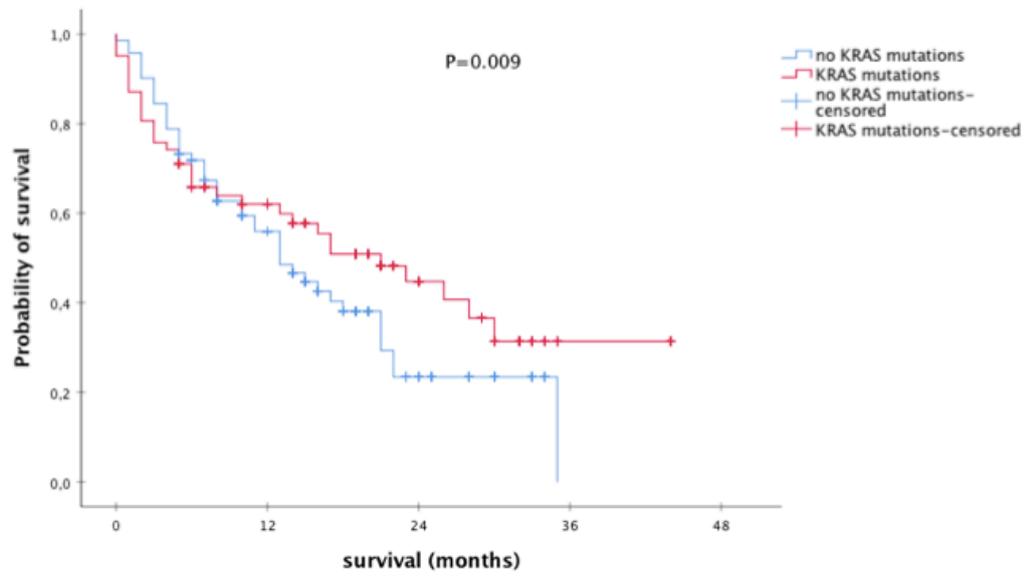
	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	Odd Ratio (95% CI)	P	Hazard Ratio (95% CI)	P
Age ≤ 64.04 years old	1	0.03	----	0.25
Age > 64.04 years old	1.83 (1.25 – 2.68)			
Gender				
Male	1.401 (0.954 – 2.058)	0.11	----	0.68
Female	1			
Smoking habit				
Non-smoker	1	0.94	----	----
Former/Active smoker	1.091 (0.552 – 2.157)			
Disease stage				
III	1	0.65	----	----
IV	1.08 (0.789 – 1.332)			
Brain metastasis				
Yes	1	0.52	----	----
No	1.169 (0.778– 1.757)			
Number of CT lines before immunotherapy*				
1	1	0.74	----	----
> 1	0.92 (0.63 – 1.344)			
<i>KRAS</i> codon 12	2.368 (1.2 – 4.676)	0.017	----	----
<i>KRAS</i> codon 13	1.01 (0.998 – 1.04)	0.73	----	----
WT <i>KRAS</i>	1			
<i>KRAS</i>				
Transversions	2.228 (1.675 – 4.625)	0.02	----	----
Transitions	0.631 (0.213 – 1.868)	0.55	----	----
WT <i>KRAS</i>	1			
<i>KRAS</i> AAS				
G12A	0.69 (0.546 – 0.789)	0.04		
G12C	4.327 (2.228 – 8 .80)	0.01		
G12D	0.539 (0.424 – 1.622)	0.59		
G12F	0.998 (0.727 – 1.328)	0.75	----	----
G12V	5.75 (2.287 – 8.302)	0.02		
G13C	0.945 (0.876 – 1.223)	0.68		
G13D	1.12 (0.967 – 1.327)	0.81		
WT <i>KRAS</i>	1			
<i>KRAS</i> AAS				<0.0001
G12A	0.69 (0.546 – 0.789)	0.04	0.56 (0.212 – 0.727)	<0.0001
G12C	4.327 (2.228 – 8 .80)	0.01	6.635 (2.278 – 9.324)	0.001
G12D	0.539 (0.424 – 1.622)	0.59	0.321 (0.256 – 1.231)	0.25
G12V	5.75 (2.287 – 8.302)	0.02	7.387 (4.657 – 9.876)	0.001
Others (G12F, G13C, G13D)	0.679 (0.543 – 2.17)	0.32	0.231 (0.127 – 1.28)	0.1
WT <i>KRAS</i>	1		1	

CCI: Charlson Comorbidity Index, HR: Hazard Ratio, CI: Confidence Interval, Immuno: immunotherapy, WT: wild type, CT: chemotherapy, *: median was taken as the cut-off value, AAS: amino-acid substitutions. Because *KRAS* AAS and *KRAS* codon mutations were correlated (Cramer's V: 0.695, P<0.0001), as well as *KRAS* transversions/transitions and *KRAS* AAS (Cramer's V: 0.722, P<0.0001) only *KRAS*

AAS was entered in the multivariate Cox model. Because of the small sample size for *KRAS* G12F, G13C and G13D, they were pooled all together in the multivariate analysis. Bold values were used to highlight significant variables.

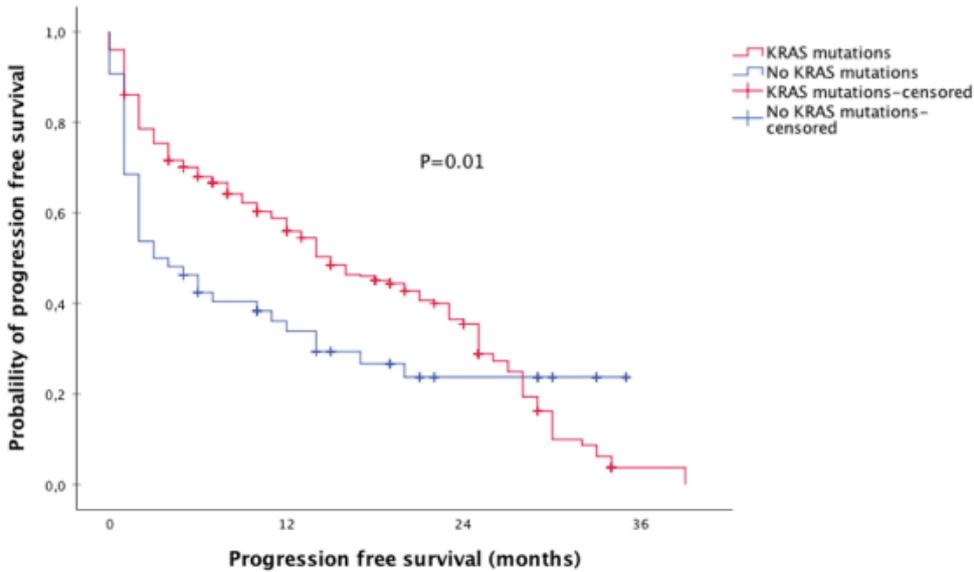
3.9 FIGURES

Figure 1. Kaplan–Meier overall survival according to the mutational status



No <i>KRAS</i> mutations	426	180	36	0	0
<i>KRAS</i> mutations	248	116	44	4	

Figure 2. Kaplan–Meier progression free survival according to the mutational status



No <i>KRAS</i> mutations	402	189	97	0
<i>KRAS</i> mutations	216	60	24	2

IV. CONCLUSION

Les patients avec un adénocarcinome pulmonaire muté *KRAS*, métastatique ou localement avancé en progression après une première ligne de chimiothérapie, répondent mieux à l'immunothérapie, que ce soit en terme de survie globale, de survie sans progression ou de taux de réponse, que les patients avec un adénocarcinome non muté. Mais cet effet bénéfique de la mutation *KRAS* est à nuancer selon la substitution d'acide aminé : si les transversions, et les mutations du codon 12, notamment G12C et G12V, sont de meilleur pronostic, les transitions et les mutations du codon 13 sont des facteurs de mauvaise réponse à l'immunothérapie.

Les résultats de notre étude renforcent donc la littérature concernant *KRAS* et son importance thérapeutique.

D'une part, notre cohorte est l'une des plus importantes cohortes étudiant l'interaction entre la mutation *KRAS* et le traitement par immunothérapie. Elle est similaire aux autres cohortes en terme d'âge au diagnostic et de sex-ratio, mais elle comporte un peu moins de mutation *KRAS* que les autres (36,8% contre jusqu'à 49% dans la cohorte de Mazières *et al.*) (38–40). Cependant, le taux de mutation *KRAS* est concordant avec le reste de la littérature sur les adénocarcinomes métastatiques. Il en va de même pour la répartition des substitutions d'acide aminé, avec une nette majorité de mutations au codon 12, et en premier lieu les mutations G12C et G12V.

D'autre part, nos résultats confirment le pronostic favorable lié à la mutation *KRAS* lors d'un traitement par immunothérapie, alors que lors d'un traitement chirurgical ou par chimiothérapie, *KRAS* reste plutôt un facteur de mauvais pronostic. Cet effet favorable de *KRAS* avait déjà été retrouvé dans les études de Ng *et al.* (40) et de Mazières *et al.* (39), mais pas dans l'étude de Passiglia *et al.* (38) qui concluait que

Le Nivolumab pouvait être utilisé de façon sûre chez les patients mutés *KRAS*, mais sans bénéfice clinique particulier par rapport à la population WT. La répartition des substitutions d'acide aminé au sein de la cohorte n'était pas décrite : si la cohorte de Passaglia *et al.* présentait une plus grande proportion de mutation du codon 13 ou de transitions, qui sont des facteurs de mauvais pronostic selon nos résultats, cela pourrait expliquer l'absence de bénéfice de la mutation *KRAS*. La cohorte de Jeanson *et al.*, plus récente, regroupait 282 patients, dont 162 patient mutés *KRAS*, traités par immunothérapie, en 1^{ère} ligne ou plus (45). Elle ne retrouvait pas non plus de bénéfice de l'immunothérapie chez les patients mutés *KRAS* comparativement aux patients WT, y compris après analyse de sous-groupe en fonction du sous-type de mutation *KRAS*. Cependant, la répartition des sous-types de mutation *KRAS* n'est pas identique entre leur cohorte et la nôtre, et leurs effectifs moindres, ce qui pourrait expliquer l'absence de bénéfice de la présence d'une mutation *KRAS* dans leur cohorte.

La différence de réponse à l'immunothérapie en fonction de la substitution d'acide aminé est très probablement liée à l'activation de voies de signalisation d'aval différente selon la substitution. Ainsi, les mutants G12C et G12V, les meilleurs répondeurs de notre cohorte, activent la même voie de signalisation Ral et présentent une diminution de l'activité du facteur de croissance Akt, tandis que le mutant G12D, qui a tendance à avoir une moins bonne réponse que le WT, active la voie PI3K et MAPK (25).

D'autres mécanismes pourraient intervenir pour expliquer la différence de réponse entre chaque substitution d'acide aminé : le taux de PD-L1 et la charge mutationnelle tumorale. Cette dernière n'étant pas réalisée en routine en France, il ne nous a pas été possible de l'évaluer dans notre cohorte. Concernant le taux de PD-L1, les

données recueillies de façon rétrospective étaient insuffisantes pour conclure sur une quelconque influence de PD-L1 sur la réponse tumorale. Plusieurs études soulignent que PD-L1 est plus fortement exprimé dans les tumeurs mutées *KRAS* (40,44). Seul Falk *et al.* ont montré une différence d'expression de PD-L1 en fonction de la substitution d'acide aminé : 12,9% pour G12V, 8% pour G12C, 5,3% pour G12D, et 6% pour le WT ($p=0.044$) (43). Cela pourrait expliquer une partie de nos résultats.

Enfin, un des derniers mécanismes pouvant expliquer nos résultats est la présence de co-mutations associées à la mutation *KRAS*. Du fait du caractère rétrospectif de notre étude, nous n'avons pu éliminer comme mutations associées que celles réalisées en routine dans le cadre du diagnostic d'adénocarcinome pulmonaire, soit *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *HER2* et *BRAF*. En 2015, Skoudilis *et al.* distinguent 3 sous-groupes de mutation *KRAS*, en fonction des mutations associées : un groupe associé à la mutation du gène suppresseur de tumeur Serine/threonine kinase 11/Liver kinase B1 (*STK11/LKB1*), un groupe associé à la mutation *TP53*, et un dernier groupe associé à une inactivation du gène suppresseur de tumeur cyclin-dependent kinase Inhibitor 2A (*CDKN2A/B*) et une diminution du facteur de transcription NK2 Homeobox 1 (*NKX2-1*) (46). Le groupe associé à *TP53* avait une charge mutationnelle plus élevée que les autres groupes, à tabagisme égal, ainsi qu'une majoration des marqueurs inflammatoires et des molécules de check-points immunitaires. Il avait également une survie sans progression plus longue que les autres groupes dans une analyse *post-hoc* de 88 patients de stade précoce. Le groupe associé à *STK11/LKB1* présentait un taux bas de marqueurs immuns, y compris PD-L1, tandis que le dernier groupe présentait plutôt une histologie mucineuse. Les différentes substitutions d'acide aminé de *KRAS* étaient réparties de façon équivalente dans les 3 groupes, ce qui suggère que la substitution d'acide

aminé n'est pas le facteur principal de la diversité des adénocarcinomes mutés *KRAS*. Koyama *et al.*, en 2016, se sont intéressés plus particulièrement à l'un des groupes décrit par Skoudilis *et al.* : le groupe *KRAS* et *STK11/LKB1* (47). Chez les souris, la co-mutation *STK11/LKB1/KRAS* conduit à une diminution d'expression de PD-L1, une diminution de l'infiltration tumorale lymphocytaire, une majoration des cytokines pro-tumorales et des marqueurs d'épuisement des lymphocytes T. Les anticorps anti-PD1 étaient inefficaces chez ces souris déficientes en *STK11/LKB1*. Enfin, Dong *et al.* se sont intéressés à la co-mutation *KRAS/TP53*, et confirment les résultats précédents : la co-mutation *KRAS/TP53* entraîne une majoration de l'expression de PD-L1, ainsi qu'un taux plus élevé de cellules PD-L1+/CD8A+ au sein de la tumeur (48). Par ailleurs, la mutation *KRAS* entraîne un défaut de réparation de l'ADN, notamment au niveau des systèmes Mismatched repair (MMR), Nucleotide excision repair et Base excision repair. Or les tumeurs présentant une déficience du système MMR sont plus sensibles à l'effet des inhibiteurs de check-points (49).

En conclusion, il s'agit à notre connaissance de la plus grande cohorte publiée sur l'impact de la substitution d'acide aminé de *KRAS* en réponse à l'immunothérapie. Nos résultats soulignent l'importance de la biologie moléculaire, et notamment de la connaissance de la substitution spécifique d'acide aminé, dans le choix du traitement des adénocarcinomes bronchiques. La meilleure réponse des adénocarcinomes mutés *KRAS* à l'immunothérapie semble d'origine multi-factorielle, impliquant différentes voies de signalisation d'aval selon l'acide aminé substitué, les co-mutations, la charge mutationnelle tumorale et l'infiltration tumorale immune.

Au vu de ces résultats prometteurs, il nous semble crucial de réaliser de nouvelles études cliniques prospectives pour mieux définir les patients qui vont bénéficier de

l'immunothérapie, et des études fondamentales pour élucider les mécanismes d'action des différentes substitutions d'acide aminé de *KRAS*.

V. BIBLIOGRAPHIE

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. 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.
2. Malhotra J, Malvezzi M, Negri E, La Vecchia C, Boffetta P. Risk factors for lung cancer worldwide. *Eur Respir J.* 2016;48(3):889-902.
3. Molina JR, Yang P, Cassivi SD, Schild SE, Adjei AA. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. *Mayo Clin Proc.* mai 2008;83(5):584-94.
4. Meza R, Meernik C, Jeon J, Cote ML. Lung cancer incidence trends by gender, race and histology in the United States, 1973-2010. *PloS One.* 2015;10(3):e0121323.
5. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66(4):271-89.
6. Weinstein IB. Cancer. Addiction to oncogenes--the Achilles heel of cancer. *Science.* 5 juill 2002;297(5578):63-4.
7. Cadranel J, Ruppert A-M, Beau-Faller M, Wislez M. Therapeutic strategy for advanced EGFR mutant non-small-cell lung carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1 déc 2013;88(3):477-93.
8. Zhou C, Wu Y-L, Chen G, Feng J, Liu X-Q, Wang C, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol.* août 2011;12(8):735-42.

9. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* mars 2012;13(3):239-46.
10. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* févr 2010;11(2):121-8.
11. Sequist LV, Yang JC-H, Yamamoto N, O'Byrne K, Hirsh V, Mok T, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 sept 2013;31(27):3327-34.
12. Juan O, Popat S. Treatment choice in epidermal growth factor receptor mutation-positive non-small cell lung carcinoma: latest evidence and clinical implications. *Ther Adv Med Oncol.* mars 2017;9(3):201-16.
13. Watanabe S, Minegishi Y, Yoshizawa H, Maemondo M, Inoue A, Sugawara S, et al. Effectiveness of gefitinib against non-small-cell lung cancer with the uncommon EGFR mutations G719X and L861Q. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* févr 2014;9(2):189-94.
14. Jancík S, Drábek J, Radzioch D, Hajdúch M. Clinical relevance of KRAS in human cancers. *J Biomed Biotechnol.* 2010;2010:150960.
15. Guibert N, Ilie M, Long E, Hofman V, Bouhlef L, Brest P, et al. KRAS Mutations in Lung Adenocarcinoma: Molecular and Epidemiological Characteristics,

Methods for Detection, and Therapeutic Strategy Perspectives. *Curr Mol Med.* 2015;15(5):418-32.

16. Guibert N, Ilie M, Léna H, Didier A, Hofman P, Mazieres J. [KRAS and bronchial adenocarcinoma. Between disappointments and hopes]. *Rev Mal Respir.* févr 2016;33(2):156-64.

17. Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature.* 23 oct 2008;455(7216):1069-75.

18. Porta M, Crous-Bou M, Wark PA, Vineis P, Real FX, Malats N, et al. Cigarette smoking and K-ras mutations in pancreas, lung and colorectal adenocarcinomas: etiopathogenic similarities, differences and paradoxes. *Mutat Res.* déc 2009;682(2-3):83-93.

19. Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, et al. The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: a systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer.* 17 janv 2005;92(1):131-9.

20. Meng D, Yuan M, Li X, Chen L, Yang J, Zhao X, et al. Prognostic value of K-RAS mutations in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *Lung Cancer Amst Neth.* juill 2013;81(1):1-10.

21. Izar B, Zhou H, Heist RS, Azzoli CG, Muzikansky A, Scribner EEF, et al. The prognostic impact of KRAS, its codon and amino acid specific mutations, on survival in resected stage I lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* sept 2014;9(9):1363-9.

22. Renaud S, Falcoz P-E, Schaëffer M, Guenot D, Romain B, Olland A, et al. Prognostic value of the KRAS G12V mutation in 841 surgically resected Caucasian lung adenocarcinoma cases. *Br J Cancer*. 20 oct 2015;113(8):1206-15.
23. Shepherd FA, Domerg C, Hainaut P, Jänne PA, Pignon J-P, Graziano S, et al. Pooled analysis of the prognostic and predictive effects of KRAS mutation status and KRAS mutation subtype in early-stage resected non-small-cell lung cancer in four trials of adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 juin 2013;31(17):2173-81.
24. Cserepes M, Ostoros G, Lohinai Z, Raso E, Barbai T, Timar J, et al. Subtype-specific KRAS mutations in advanced lung adenocarcinoma: a retrospective study of patients treated with platinum-based chemotherapy. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. juill 2014;50(10):1819-28.
25. Ihle NT, Byers LA, Kim ES, Saintigny P, Lee JJ, Blumenschein GR, et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst*. 8 févr 2012;104(3):228-39.
26. Rak J, Mitsushashi Y, Bayko L, Filmus J, Shirasawa S, Sasazuki T, et al. Mutant ras oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis. *Cancer Res*. 15 oct 1995;55(20):4575-80.
27. Al-Mulla F, Milner-White EJ, Going JJ, Birnie GD. Structural differences between valine-12 and aspartate-12 Ras proteins may modify carcinoma aggression. *J Pathol*. mars 1999;187(4):433-8.
28. Garassino MC, Marabese M, Rusconi P, Rulli E, Martelli O, Farina G, et al. Different types of K-Ras mutations could affect drug sensitivity and tumour behaviour

in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. janv 2011;22(1):235-7.

29. Guerrero S, Casanova I, Farré L, Mazo A, Capellà G, Manges R. K-ras codon 12 mutation induces higher level of resistance to apoptosis and predisposition to anchorage-independent growth than codon 13 mutation or proto-oncogene overexpression. *Cancer Res*. 1 déc 2000;60(23):6750-6.

30. Singh A, Greninger P, Rhodes D, Koopman L, Violette S, Bardeesy N, et al. A gene expression signature associated with « K-Ras addiction » reveals regulators of EMT and tumor cell survival. *Cancer Cell*. 2 juin 2009;15(6):489-500.

31. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 oct 2015;373(17):1627-39.

32. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 21 2017;389(10066):255-65.

33. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han J-Y, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 9 avr 2016;387(10027):1540-50.

34. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csósz T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 10 2016;375(19):1823-33.

35. Mhanna L, Guibert N, Milia J, Mazieres J. When to Consider Immune Checkpoint Inhibitors in Oncogene-Driven Non-Small Cell Lung Cancer? *Curr Treat Options Oncol*. 6 juin 2019;20(7):60.
36. Singal G, Miller PG, Agarwala V, Li G, Kaushik G, Backenroth D, et al. Association of Patient Characteristics and Tumor Genomics With Clinical Outcomes Among Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Using a Clinicogenomic Database. *JAMA*. 09 2019;321(14):1391-9.
37. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 3 avr 2015;348(6230):124-8.
38. Passiglia F, Cappuzzo F, Alabiso O, Bettini AC, Bidoli P, Chiari R, et al. Efficacy of nivolumab in pre-treated non-small-cell lung cancer patients harbouring KRAS mutations. *Br J Cancer*. janv 2019;120(1):57-62.
39. Mazières J, Drlon A, Lusque A, Mhanna L, Cortot AB, Mezquita L, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 24 mai 2019;
40. Ng TL, Liu Y, Dimou A, Patil T, Aisner DL, Dong Z, et al. Predictive value of oncogenic driver subtype, programmed death-1 ligand (PD-L1) score, and smoking status on the efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors in patients with oncogene-driven non-small cell lung cancer. *Cancer*. 1 avr 2019;125(7):1038-49.
41. Lee CK, Man J, Lord S, Cooper W, Links M, GebSKI V, et al. Clinical and Molecular Characteristics Associated With Survival Among Patients Treated With Checkpoint Inhibitors for Advanced Non-Small Cell Lung Carcinoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 1 févr 2018;4(2):210-6.

42. Busch SE, Hanke ML, Kargl J, Metz HE, MacPherson D, Houghton AM. Lung Cancer Subtypes Generate Unique Immune Responses. *J Immunol Baltim Md 1950*. 01 2016;197(11):4493-503.
43. Falk AT, Yazbeck N, Guibert N, Chamorey E, Paquet A, Ribeyre L, et al. Effect of mutant variants of the KRAS gene on PD-L1 expression and on the immune microenvironment and association with clinical outcome in lung adenocarcinoma patients. *Lung Cancer Amst Neth*. 2018;121:70-5.
44. Chen N, Fang W, Lin Z, Peng P, Wang J, Zhan J, et al. KRAS mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother Cll*. sept 2017;66(9):1175-87.
45. Jeanson A, Tomasini P, Souquet-Bressand M, Brandone N, Boucekine M, Grangeon M, et al. Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in KRAS-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. juin 2019;14(6):1095-101.
46. Skoulidis F, Goldberg ME, Greenawalt DM, Hellmann MD, Awad MM, Gainor JF, et al. STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov*. juill 2018;8(7):822-35.
47. Koyama S, Akbay EA, Li YY, Aref AR, Skoulidis F, Herter-Sprue GS, et al. STK11/LKB1 Deficiency Promotes Neutrophil Recruitment and Proinflammatory Cytokine Production to Suppress T-cell Activity in the Lung Tumor Microenvironment. *Cancer Res*. 1 mars 2016;76(5):999-1008.
48. Dong Z-Y, Zhong W-Z, Zhang X-C, Su J, Xie Z, Liu S-Y, et al. Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade

Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 15 juin 2017;23(12):3012-24.

49. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. Science. 28 2017;357(6349):409-13.

RESUME DE LA THESE :

Introduction : L'immunothérapie est le standard de traitement en 2ème intention des carcinomes bronchiques non à petites cellules. L'objectif de ce travail est d'évaluer si les différents sous-types de mutations du gène *KRAS* sont des facteurs pronostiques de réponse à l'immunothérapie chez les patients porteurs d'un adénocarcinome pulmonaire en récidive.

Méthodes : Etude rétrospective, multicentrique, de patients porteurs d'adénocarcinomes pulmonaires de stade III ou IV, en récidive après une première ligne de chimiothérapie, dont le statut mutationnel était connu, et traités par immunothérapie entre 2015 et 2018. Les critères de jugement étaient la survie globale (SG), la survie sans progression (SSP), la réponse tumorale selon les critères RECIST, et la tolérance du traitement.

Résultats : Parmi les 674 patients, 248 (36,8%) avaient une tumeur avec une mutation *KRAS*, essentiellement du codon 12 (n=240, 96,8%), avec une majorité de mutations G12C (n=112, 45,2%) et G12V (n=60, 24,2%). Les groupes *KRAS* muté et wild-type (WT) étaient comparables en terme d'âge (âge médian de 64,04 ans) et de sexe (65,9% d'hommes). Le groupe de patients avec une tumeur *KRAS* muté présentait moins de cancers de stade IV (n=212, 85,5%) et de métastases cérébrales (n=52, 21%) que le groupe WT (stade IV : n=402, 94,4%, P<0,001 ; métastases cérébrales : n=156, 36,6%, P<0,001), mais avait un Performans Status plus élevé (P=0,001). Les médianes de SG et de SSP de la cohorte étaient de 15 et 12 mois respectivement. Les SG et SSP médianes étaient plus longues dans le groupe avec tumeur mutée *KRAS* (SG: 21 mois; SSP: 15 mois) comparé au groupe WT (SG: 13 mois, P=0,009; SSP: 3 mois, P=0,01). Les patients avec les mutations *KRAS* G12V (n=60, 24,2%) et G12C (n=112, 45,2%) avaient de meilleures SG et SSP (G12V: SG: 28 mois, SSP: 17 mois; G12C: SG: 23 mois, SSP: 11 mois) que les patients WT (SG: 13 mois, P<0,0001; SSP: 3 mois, P<0,0001), et que les patients mutés *KRAS* G13X (SG : 1 mois, P<0,0001 ; SSP : 0 mois, P<0,0001). Le taux de réponse objective à l'immunothérapie était meilleure dans le groupe *KRAS* comparé au groupe WT (27,9% vs 20,9%, P=0,05), notamment pour les mutants *KRAS* G12V (OR: 5,75 (95% CI: 2,29 – 8,30), P=0,02) et G12C (OR: 4,33 (95% CI: 2,23 – 8,80), P=0,01). La tolérance de l'immunothérapie était similaire chez les patients *KRAS* muté et WT.

Conclusion: Les transversions G12V et G12D de *KRAS* seraient un facteur prédictif et pronostique chez les patients présentant un adénocarcinome pulmonaire traités par immunothérapie en récidive après au moins une première ligne de chimiothérapie.

TITRE EN ANGLAIS : Prognostic value of *KRAS* amino-acid substitutions in recurrent lung adenocarcinomas treated by immunotherapy in a retrospective French cohort

THESE : MEDECINE SPECIALISEE – ANNEE 2019

MOTS CLES : cancer bronchique non à petites cellules métastatique, *KRAS*, substitution d'acides aminés, addiction oncogénique

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR :

UNIVERSITE DE LORRAINE
FACULTE DE MEDECINE NANCY
9 avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE-LES-NANCY
