

**UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER**  
**FACULTÉS DE MÉDECINE**

---

ANNÉE 2016

2016 TOU3 1584

**THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE**

Présentée et soutenue publiquement

par

**Juliette HARDY**

le 04 OCTOBRE 2016

**ETUDE DU PROFIL METASTATIQUE  
GANGLIONNAIRE COMME FACTEUR PRONOSTIQUE  
DE REPONSE A L'IPILIMUMAB**

Directeur de thèse : Pr Nicolas MEYER

**JURY**

Monsieur le Professeur Carle PAUL  
Madame le Professeur Juliette MAZEREEUW-HAUTIER  
Monsieur le Professeur Nicolas MEYER  
Monsieur le Docteur Richard AZIZA  
Madame le Docteur Joséphine OFAICHE

Président  
Assesseur  
Assesseur  
Assesseur  
Suppléant

**TABLEAU du PERSONNEL HU**  
**des Facultés de Médecine de l'Université Paul Sabatier**  
**au 1<sup>er</sup> septembre 2015**

**Professeurs Honoraires**

|                              |                        |                      |                    |
|------------------------------|------------------------|----------------------|--------------------|
| Doyen Honoraire              | M. ROUGE D.            | Professeur Honoraire | M. BARTHE          |
| Doyen Honoraire              | M. LAZORTHES Y.        | Professeur Honoraire | M. CABARROT        |
| Doyen Honoraire              | M. CHAP H.             | Professeur Honoraire | M. DUFFAUT         |
| Doyen Honoraire              | M. GUIRAUD-CHAUMEIL B. | Professeur Honoraire | M. ESCAT           |
| Doyen Honoraire              | M. PUEL P.             | Professeur Honoraire | M. ESCANDE         |
| Professeur Honoraire         | M. ESCHAPASSE          | Professeur Honoraire | M. PRIS            |
| Professeur Honoraire         | Mme ENJALBERT          | Professeur Honoraire | M. CATHALA         |
| Professeur Honoraire         | M. GEDEON              | Professeur Honoraire | M. BAZEX           |
| Professeur Honoraire         | M. PASQUIE             | Professeur Honoraire | M. VIRENQUE        |
| Professeur Honoraire         | M. RIBAUT              | Professeur Honoraire | M. CARLES          |
| Professeur Honoraire         | M. ARLET J.            | Professeur Honoraire | M. BONAFÉ          |
| Professeur Honoraire         | M. RIBET               | Professeur Honoraire | M. VAYSSE          |
| Professeur Honoraire         | M. MONROZIES           | Professeur Honoraire | M. ESQUERRE        |
| Professeur Honoraire         | M. DALOUS              | Professeur Honoraire | M. GUITARD         |
| Professeur Honoraire         | M. DUPRE               | Professeur Honoraire | M. LAZORTHES F.    |
| Professeur Honoraire         | M. FABRE J.            | Professeur Honoraire | M. ROQUE-LATRILLE  |
| Professeur Honoraire         | M. DUCOS               | Professeur Honoraire | M. CERENE          |
| Professeur Honoraire         | M. LACOMME             | Professeur Honoraire | M. FOURNIAL        |
| Professeur Honoraire         | M. COTONAT             | Professeur Honoraire | M. HOFF            |
| Professeur Honoraire         | M. DAVID               | Professeur Honoraire | M. REME            |
| Professeur Honoraire         | Mme DIDIER             | Professeur Honoraire | M. FAUVEL          |
| Professeur Honoraire         | Mme LARENG M.B.        | Professeur Honoraire | M. FREXINOS        |
| Professeur Honoraire         | M. BES                 | Professeur Honoraire | M. CARRIERE        |
| Professeur Honoraire         | M. BERNADET            | Professeur Honoraire | M. MANSAT M.       |
| Professeur Honoraire         | M. REGNIER             | Professeur Honoraire | M. BARRET          |
| Professeur Honoraire         | M. COMBELLES           | Professeur Honoraire | M. ROLLAND         |
| Professeur Honoraire         | M. REGIS               | Professeur Honoraire | M. THOUVENOT       |
| Professeur Honoraire         | M. ARBUS               | Professeur Honoraire | M. CAHUZAC         |
| Professeur Honoraire         | M. PUJOL               | Professeur Honoraire | M. DELSOL          |
| Professeur Honoraire         | M. ROCHICCIOLI         | Professeur Honoraire | M. ABBAL           |
| Professeur Honoraire         | M. RUMEAU              | Professeur Honoraire | M. DURAND          |
| Professeur Honoraire         | M. BESOMBES            | Professeur Honoraire | M. DALY-SCHVEITZER |
| Professeur Honoraire         | M. SUC                 | Professeur Honoraire | M. RAILHAC         |
| Professeur Honoraire         | M. VALDIGUIE           | Professeur Honoraire | M. POURRAT         |
| Professeur Honoraire         | M. BOUNHOURE           | Professeur Honoraire | M. QUERLEU D.      |
| Professeur Honoraire         | M. CARTON              | Professeur Honoraire | M. ARNE JL         |
| Professeur Honoraire         | Mme PUEL J.            | Professeur Honoraire | M. ESCOURROU J.    |
| Professeur Honoraire         | M. GOUZI               | Professeur Honoraire | M. FOURTANIER G.   |
| Professeur Honoraire associé | M. DUTAU               | Professeur Honoraire | M. LAGARRIGUE J.   |
| Professeur Honoraire         | M. PASCAL              | Professeur Honoraire | M. PESSEY JJ.      |
| Professeur Honoraire         | M. SALVADOR M.         | Professeur Honoraire | M. CHAVOIN JP      |
| Professeur Honoraire         | M. BAYARD              | Professeur Honoraire | M. GERAUD G.       |
| Professeur Honoraire         | M. LEOPHONTE           | Professeur Honoraire | M. PLANTE P.       |
| Professeur Honoraire         | M. FABIÉ               | Professeur Honoraire | M. MAGNAVAL JF     |

**Professeurs Émérites**

|                             |                          |
|-----------------------------|--------------------------|
| Professeur ALBAREDE         | Professeur JL. ADER      |
| Professeur CONTÉ            | Professeur Y. LAZORTHES  |
| Professeur MURAT            | Professeur L. LARENG     |
| Professeur MANELFE          | Professeur F. JOFFRE     |
| Professeur LOUVET           | Professeur B. BONEU      |
| Professeur SARRAMON         | Professeur H. DABERNAT   |
| Professeur CARATERO         | Professeur M. BOCCALON   |
| Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL | Professeur B. MAZIERES   |
| Professeur COSTAGLIOLA      | Professeur E. ARLET-SUAU |
|                             | Professeur J. SIMON      |

**P.U. - P.H.**

Classe Exceptionnelle et 1ère classe

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| M. ADOUE Daniel                | Médecine Interne, Gériatrie              |
| M. AMAR Jacques                | Thérapeutique                            |
| M. ATTAL Michel (C.E)          | Hématologie                              |
| M. AVET-LOISEAU Hervé          | Hématologie, transfusion                 |
| M. BIRMES Philippe             | Psychiatrie                              |
| M. BLANCHER Antoine            | Immunologie (option Biologique)          |
| M. BONNEVIALLE Paul            | Chirurgie Orthopédique et Traumatologie. |
| M. BOSSAVY Jean-Pierre         | Chirurgie Vasculaire                     |
| M. BRASSAT David               | Neurologie                               |
| M. BROUSSET Pierre (C.E)       | Anatomie pathologique                    |
| M. BUGAT Roland (C.E)          | Cancérologie                             |
| M. CARRIE Didier               | Cardiologie                              |
| M. CHAP Hugues (C.E)           | Biochimie                                |
| M. CHAUVEAU Dominique          | Néphrologie                              |
| M. CHOLLET François (C.E)      | Neurologie                               |
| M. CLANET Michel (C.E)         | Neurologie                               |
| M. DAHAN Marcel (C.E)          | Chirurgie Thoracique et Cardiaque        |
| M. DEGUINE Olivier             | Oto-rhino-laryngologie                   |
| M. DUCOMMUN Bernard            | Cancérologie                             |
| M. FERRIERES Jean              | Epidémiologie, Santé Publique            |
| M. FOURCADE Olivier            | Anesthésiologie                          |
| M. FRAYSSE Bernard (C.E)       | Oto-rhino-laryngologie                   |
| M. IZOPET Jacques (C.E)        | Bactériologie-Virologie                  |
| Mme LAMANT Laurence            | Anatomie Pathologique                    |
| M. LANG Thierry                | Bio-statistique Informatique Médicale    |
| M. LANGIN Dominique            | Nutrition                                |
| M. LAUQUE Dominique (C.E)      | Médecine Interne                         |
| M. LIBLAU Roland (C.E)         | Immunologie                              |
| M. MALAVAUD Bernard            | Urologie                                 |
| M. MANSAT Pierre               | Chirurgie Orthopédique                   |
| M. MARCHOU Bruno               | Maladies Infectieuses                    |
| M. MOLINIER Laurent            | Epidémiologie, Santé Publique            |
| M. MONROZIES Xavier            | Gynécologie Obstétrique                  |
| M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E) | Pharmacologie                            |
| M. MOSCOVICI Jacques           | Anatomie et Chirurgie Pédiatrique        |
| Mme MOYAL Elisabeth            | Cancérologie                             |
| Mme NOURHASHEMI Fatemeh        | Gériatrie                                |
| M. OLIVES Jean-Pierre (C.E)    | Pédiatrie                                |
| M. OSWALD Eric                 | Bactériologie-Virologie                  |
| M. PARINAUD Jean               | Biol. Du Dévelop. et de la Reprod.       |
| M. PAUL Carle                  | Dermatologie                             |
| M. PAYOUX Pierre               | Biophysique                              |
| M. PERRET Bertrand (C.E)       | Biochimie                                |
| M. PRADERE Bernard (C.E)       | Chirurgie générale                       |
| M. RASCOL Olivier              | Pharmacologie                            |
| M. RECHER Christian            | Hématologie                              |
| M. RISCHMANN Pascal (C.E)      | Urologie                                 |
| M. RIVIERE Daniel (C.E)        | Physiologie                              |
| M. SALES DE GAUZY Jérôme       | Chirurgie Infantile                      |
| M. SALLES Jean-Pierre          | Pédiatrie                                |
| M. SANS Nicolas                | Radiologie                               |
| M. SERRE Guy (C.E)             | Biologie Cellulaire                      |
| M. TELMON Norbert              | Médecine Légale                          |
| M. VINEL Jean-Pierre (C.E)     | Hépatogastro-entérologie                 |

**P.U. - P.H.**

2ème classe

|                          |                                       |
|--------------------------|---------------------------------------|
| Mme BEYNE-RAUZY Odile    | Médecine Interne                      |
| M. BROUCHET Laurent      | Chirurgie thoracique et cardio-vascul |
| M. BUREAU Christophe     | Hépatogastro-entéro                   |
| M. CALVAS Patrick        | Génétique                             |
| M. CARRERE Nicolas       | Chirurgie Générale                    |
| Mme CASPER Charlotte     | Pédiatrie                             |
| M. CHAIX Yves            | Pédiatrie                             |
| Mme CHARPENTIER Sandrine | Thérapeutique, méd. d'urgence, addict |
| M. COGNARD Christophe    | Neuroradiologie                       |
| M. DE BOISSEZON Xavier   | Médecine Physique et Réadapt Fonct.   |
| M. FOURNIE Bernard       | Rhumatologie                          |
| M. FOURNIÉ Pierre        | Ophthalmologie                        |
| M. GAME Xavier           | Urologie                              |
| M. GEERAERTS Thomas      | Anesthésiologie et réanimation        |
| Mme GENESTAL Michèle     | Réanimation Médicale                  |
| M. LAROCHE Michel        | Rhumatologie                          |
| M. LAUWERS Frédéric      | Anatomie                              |
| M. LEOBON Bertrand       | Chirurgie Thoracique et Cardiaque     |
| M. MARX Mathieu          | Oto-rhino-laryngologie                |
| M. MAS Emmanuel          | Pédiatrie                             |
| M. MAZIERES Julien       | Pneumologie                           |
| M. OLIVOT Jean-Marc      | Neurologie                            |
| M. PARANT Olivier        | Gynécologie Obstétrique               |
| M. PARIENTE Jérémie      | Neurologie                            |
| M. PATHAK Atul           | Pharmacologie                         |
| M. PAYRASTRE Bernard     | Hématologie                           |
| M. PERON Jean-Marie      | Hépatogastro-entérologie              |
| M. PORTIER Guillaume     | Chirurgie Digestive                   |
| M. RONCALLI Jérôme       | Cardiologie                           |
| Mme SAVAGNER Frédérique  | Biochimie et biologie moléculaire     |
| Mme SELVES Janick        | Anatomie et cytologie pathologiques   |
| M. SOL Jean-Christophe   | Neurochirurgie                        |

**P.U.**

|                     |                   |
|---------------------|-------------------|
| M. OUSTRIC Stéphane | Médecine Générale |
|---------------------|-------------------|

**P.U. - P.H.**  
Classe Exceptionnelle et 1ère classe

**P.U. - P.H.**  
2ème classe

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| M. ACAR Philippe                   | Pédiatrie                                     |
| M. ALRIC Laurent                   | Médecine Interne                              |
| Mme ANDRIEU Sandrine               | Epidémiologie                                 |
| M. ARLET Philippe (C.E)            | Médecine Interne                              |
| M. ARNAL Jean-François             | Physiologie                                   |
| Mme BERRY Isabelle (C.E)           | Biophysique                                   |
| M. BOUTAULT Franck (C.E)           | Chirurgie Maxillo-Faciale et Stomatologie     |
| M. BUJAN Louis                     | Urologie-Andrologie                           |
| M. BUSCAIL Louis                   | Hépat-Gastro-Entérologie                      |
| M. CANTAGREL Alain (C.E)           | Rhumatologie                                  |
| M. CARON Philippe (C.E)            | Endocrinologie                                |
| M. CHAMONTIN Bernard (C.E)         | Thérapeutique                                 |
| M. CHIRON Philippe (C.E)           | Chirurgie Orthopédique et Traumatologie       |
| M. CONSTANTIN Arnaud               | Rhumatologie                                  |
| M. COURBON Frédéric                | Biophysique                                   |
| Mme COURTADE SAIDI Monique         | Histologie Embryologie                        |
| M. DELABESSE Eric                  | Hématologie                                   |
| Mme DELISLE Marie-Bernadette (C.E) | Anatomie Pathologique                         |
| M. DIDIER Alain (C.E)              | Pneumologie                                   |
| M. ELBAZ Meyer                     | Cardiologie                                   |
| M. GALINIER Michel                 | Cardiologie                                   |
| M. GLOCK Yves                      | Chirurgie Cardio-Vasculaire                   |
| M. GOURDY Pierre                   | Endocrinologie                                |
| M. GRAND Alain (C.E)               | Epidémiologie. Eco. de la Santé et Prévention |
| M. GROLEAU RAOUX Jean-Louis        | Chirurgie plastique                           |
| Mme GUIMBAUD Rosine                | Cancérologie                                  |
| Mme HANAIRE Héléne (C.E)           | Endocrinologie                                |
| M. KAMAR Nassim                    | Néphrologie                                   |
| M. LARRUE Vincent                  | Neurologie                                    |
| M. LAURENT Guy (C.E)               | Hématologie                                   |
| M. LEVADE Thierry (C.E)            | Biochimie                                     |
| M. MALECAZE François (C.E)         | Ophthalmologie                                |
| M. MARQUE Philippe                 | Médecine Physique et Réadaptation             |
| Mme MARTY Nicole                   | Bactériologie Virologie Hygiène               |
| M. MASSIP Patrice (C.E)            | Maladies Infectieuses                         |
| M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)     | Psychiatrie Infantile                         |
| M. RITZ Patrick                    | Nutrition                                     |
| M. ROCHE Henri (C.E)               | Cancérologie                                  |
| M. ROLLAND Yves                    | Gériatrie                                     |
| M. ROSTAING Lionel (C.E).          | Néphrologie                                   |
| M. ROUGE Daniel (C.E)              | Médecine Légale                               |
| M. ROUSSEAU Hervé (C.E)            | Radiologie                                    |
| M. SALVAYRE Robert (C.E)           | Biochimie                                     |
| M. SCHMITT Laurent (C.E)           | Psychiatrie                                   |
| M. SENARD Jean-Michel              | Pharmacologie                                 |
| M. SERRANO Elie (C.E)              | Oto-rhino-laryngologie                        |
| M. SOULAT Jean-Marc                | Médecine du Travail                           |
| M. SOULIE Michel (C.E)             | Urologie                                      |
| M. SUC Bertrand                    | Chirurgie Digestive                           |
| Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)     | Pédiatrie                                     |
| M. VAYSSIERE Christophe            | Gynécologie Obstétrique                       |
| M. VELLAS Bruno (C.E)              | Gériatrie                                     |

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| M. ACCADBLED Franck            | Chirurgie Infantile                      |
| M. ARBUS Christophe            | Psychiatrie                              |
| M. BERRY Antoine               | Parasitologie                            |
| M. BONNEVILLE Fabrice          | Radiologie                               |
| M. BOUNES Vincent              | Médecine d'urgence                       |
| Mme BURA-RIVIERE Alessandra    | Médecine Vasculaire                      |
| M. CHAUFOUR Xavier             | Chirurgie Vasculaire                     |
| M. CHAYNES Patrick             | Anatomie                                 |
| M. DAMBRIN Camille             | Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire |
| M. DECRAMER Stéphane           | Pédiatrie                                |
| M. DELOBEL Pierre              | Maladies Infectieuses                    |
| M. DELORD Jean-Pierre          | Cancérologie                             |
| Mme DULY-BOUHANICK Béatrice    | Thérapeutique                            |
| M. FRANCHITTO Nicolas          | Toxicologie                              |
| M. GALINIER Philippe           | Chirurgie Infantile                      |
| M. GARRIDO-STÓWHAS Ignacio     | Chirurgie Plastique                      |
| Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel | Anatomie Pathologique                    |
| M. HUYGHE Eric                 | Urologie                                 |
| M. LAFFOSSE Jean-Michel        | Chirurgie Orthopédique et Traumatologie  |
| M. LEGUEVAQUE Pierre           | Chirurgie Générale et Gynécologique      |
| M. MARCHEIX Bertrand           | Chirurgie thoracique et cardiovasculaire |
| Mme MAZEREEUW Juliette         | Dermatologie                             |
| M. MEYER Nicolas               | Dermatologie                             |
| M. MINVILLE Vincent            | Anesthésiologie Réanimation              |
| M. MUSCARI Fabrice             | Chirurgie Digestive                      |
| M. OTAL Philippe               | Radiologie                               |
| M. ROUX Franck-Emmanuel        | Neurochirurgie                           |
| M. SAILLER Laurent             | Médecine Interne                         |
| M. TACK Ivan                   | Physiologie                              |
| Mme URO-COSTE Emmanuelle       | Anatomie Pathologique                    |
| M. VERGEZ Sébastien            | Oto-rhino-laryngologie                   |

**M.C.U. - P.H.**

|                             |                                    |
|-----------------------------|------------------------------------|
| M. APOIL Pol Andre          | Immunologie                        |
| Mme ARNAUD Catherine        | Epidémiologie                      |
| M. BIETH Eric               | Génétique                          |
| Mme BONGARD Varina          | Epidémiologie                      |
| Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie   | Nutrition                          |
| Mme CASSAING Sophie         | Parasitologie                      |
| Mme CONCINA Dominique       | Anesthésie-Réanimation             |
| M. CONGY Nicolas            | Immunologie                        |
| Mme COURBON Christine       | Pharmacologie                      |
| Mme DAMASE Christine        | Pharmacologie                      |
| Mme de GLISEZENSKY Isabelle | Physiologie                        |
| Mme DE MAS Véronique        | Hématologie                        |
| Mme DELMAS Catherine        | Bactériologie Virologie Hygiène    |
| M. DUBOIS Damien            | Bactériologie Virologie Hygiène    |
| Mme DUGUET Anne-Marie       | Médecine Légale                    |
| M. DUPUI Philippe           | Physiologie                        |
| M. FAGUER Stanislas         | Néphrologie                        |
| Mme FILLAUX Judith          | Parasitologie                      |
| M. GANTET Pierre            | Biophysique                        |
| Mme GENNERO Isabelle        | Biochimie                          |
| Mme GENOUX Annelise         | Biochimie et biologie moléculaire  |
| M. HAMDJ Safouane           | Biochimie                          |
| Mme HITZEL Anne             | Biophysique                        |
| M. IRIART Xavier            | Parasitologie et mycologie         |
| M. JALBERT Florian          | Stomatologie et Maxillo-Faciale    |
| Mme JONCA Nathalie          | Biologie cellulaire                |
| M. KIRZIN Sylvain           | Chirurgie générale                 |
| Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse   | Pharmacologie                      |
| M. LAURENT Camille          | Anatomie Pathologique              |
| Mme LE TINNIER Anne         | Médecine du Travail                |
| M. LHERMUSIER Thibault      | Cardiologie                        |
| M. LOPEZ Raphael            | Anatomie                           |
| Mme MONTASTIER Emilie       | Nutrition                          |
| M. MONTOYA Richard          | Physiologie                        |
| Mme MOREAU Marion           | Physiologie                        |
| Mme NOGUEIRA M.L.           | Biologie Cellulaire                |
| M. PILLARD Fabien           | Physiologie                        |
| Mme PRERE Marie-Françoise   | Bactériologie Virologie            |
| Mme PUISSANT Bénédicte      | Immunologie                        |
| Mme RAGAB Janie             | Biochimie                          |
| Mme RAYMOND Stéphanie       | Bactériologie Virologie Hygiène    |
| Mme SABOURDY Frédérique     | Biochimie                          |
| Mme SAUNE Karine            | Bactériologie Virologie            |
| M. SILVA SIFONTES Stein     | Réanimation                        |
| M. SOLER Vincent            | Ophthalmologie                     |
| M. TAFANI Jean-André        | Biophysique                        |
| M. TREINER Emmanuel         | Immunologie                        |
| Mme TREMOLLIÈRES Florence   | Biologie du développement          |
| M. TRICOIRE Jean-Louis      | Anatomie et Chirurgie Orthopédique |
| M. VINCENT Christian        | Biologie Cellulaire                |

**M.C.U. - P.H.**

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| Mme ABRAVANEL Florence      | Bactériologie Virologie Hygiène          |
| M. BES Jean-Claude          | Histologie - Embryologie                 |
| M. CAMBUS Jean-Pierre       | Hématologie                              |
| Mme CANTERO Anne-Valérie    | Biochimie                                |
| Mme CARFAGNA Luana          | Pédiatrie                                |
| Mme CASSOL Emmanuelle       | Biophysique                              |
| Mme CAUSSE Elisabeth        | Biochimie                                |
| M. CHAPUT Benoit            | Chirurgie plastique et des brûlés        |
| M. CHASSAING Nicolas        | Génétique                                |
| Mme CLAVE Danielle          | Bactériologie Virologie                  |
| M. CLAVEL Cyril             | Biologie Cellulaire                      |
| Mme COLLIN Laetitia         | Cytologie                                |
| M. CORRE Jill               | Hématologie                              |
| M. DEDOUIT Fabrice          | Médecine Légale                          |
| M. DELPLA Pierre-André      | Médecine Légale                          |
| M. DESPAS Fabien            | Pharmacologie                            |
| M. EDQUARD Thomas           | Pédiatrie                                |
| Mme ESQUIROL Yolande        | Médecine du travail                      |
| Mme EVRARD Solène           | Histologie, embryologie et cytologie     |
| Mme GALINIER Anne           | Nutrition                                |
| Mme GARDETTE Virginie       | Epidémiologie                            |
| M. GASQ David               | Physiologie                              |
| Mme GRARE Marion            | Bactériologie Virologie Hygiène          |
| Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline | Anatomie Pathologique                    |
| Mme GUYONNET Sophie         | Nutrition                                |
| M. HERIN Fabrice            | Médecine et santé au travail             |
| Mme INGUENEAU Cécile        | Biochimie                                |
| M. LAHARRAGUE Patrick       | Hématologie                              |
| M. LAIREZ Olivier           | Biophysique et médecine nucléaire        |
| Mme LAPRIE Anne             | Cancérologie                             |
| M. LEANDRI Roger            | Biologie du dével. et de la reproduction |
| Mme LEOBON Céline           | Cytologie et histologie                  |
| M. LEPAGE Benoit            | Bio-statistique                          |
| Mme MAUPAS Françoise        | Biochimie                                |
| M. MIEUSSET Roger           | Biologie du dével. et de la reproduction |
| Mme NASR Nathalie           | Neurologie                               |
| Mme PERIQUET Brigitte       | Nutrition                                |
| Mme PRADDAUDE Françoise     | Physiologie                              |
| M. RIMAILHO Jacques         | Anatomie et Chirurgie Générale           |
| M. RONGIERES Michel         | Anatomie - Chirurgie orthopédique        |
| Mme SOMMET Agnès            | Pharmacologie                            |
| M. TKACZUK Jean             | Immunologie                              |
| Mme VALLET Marion           | Physiologie                              |
| Mme VEZZOSI Delphine        | Endocrinologie                           |

**M.C.U.**

|                           |                   |
|---------------------------|-------------------|
| M. BISMUTH Serge          | Médecine Générale |
| Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve | Médecine Générale |
| Mme ESCOURROU Brigitte    | Médecine Générale |

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr BRILLAC Thierry  
Dr ABITTEBOUL Yves  
Dr CHICOULAA Bruno  
Dr IRI-DELAHAYE Motoko

Dr BISMUTH Michel  
Dr BOYER Pierre  
Dr ANE Serge

# Remerciements

---

*A notre président de jury,*

**Monsieur le Professeur Carle PAUL**, Chef de service, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Dermatologie.

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. A vos côtés j'ai appris la rigueur et la démarche diagnostique en dermatologie. Vous travaillez chaque jour à promouvoir notre belle spécialité et à faire de ce service l'un des meilleurs dans son domaine. Vos compétences ont toujours suscité en moi une très grande admiration. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

*A notre jury,*

**Madame le Professeur Juliette MAZEREEUW-HAUTIER**, Professeure des Universités, Praticien Hospitalier, Service de Dermatologie.

Ce fut un réel plaisir de travailler à tes côtés. Grâce à toi j'ai découvert et énormément apprécié la dermatologie pédiatrique. J'espère continuer à bénéficier de ton expertise dans ce domaine. Même si la tâche n'est pas facile tu réussis, dans la mesure du possible, à concilier nos attentes et les impératifs du service. Un grand merci pour ta disponibilité et ton écoute durant tout mon internat.

**Monsieur le Docteur Richard AZIZA**, Praticien Hospitalier, Service d'imagerie médicale de l'institut universitaire du cancer.

Cette thèse n'aurait pas été possible sans vous et je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Nous n'avons pas eu l'occasion de travailler ensemble mais j'ai apprécié votre accessibilité et votre enthousiasme. Recevez, à travers ce travail l'expression de ma profonde gratitude.

**Madame le Docteur Joséphine OFAICHE**, Chef de clinique, Service de Dermatologie.

Tu me fais l'honneur, avec enthousiasme, d'accepter de siéger à mon jury de thèse et cela me fait très plaisir car la tâche n'est pas facile. Tu m'as aidé à appréhender la chirurgie dermatologique que tu pratiques avec passion. Merci d'avoir pu te rendre disponible pour répondre à chacune de mes interrogations et surtout ces derniers mois alors que la fin de l'internat approchait. Ta rigueur et ton organisation sont des exemples pour moi. Je te souhaite beaucoup de bonheur dans ta nouvelle vie post-clinicat et je ne doute pas que nous nous reverrons à ton retour de Nouvelle-Calédonie.

*A mon directeur de thèse,*

**Monsieur le Professeur Nicolas MEYER**, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier,  
Service de Dermatologie.

Déjà 2 ans que tu m'as proposé ce sujet de thèse et les choses ont bien changé depuis puisque tu es devenu professeur et en charge de l'oncodermatologie à l'IUCT. Malgré ton activité hospitalo-universitaire chargée tu es toujours resté disponible et je t'en remercie. Ton expertise en oncodermatologie est considérable. Travailler avec toi a été un réel plaisir bien que j'ai parfois quelques difficultés à comprendre la subtilité de certaines de tes blagues. « Il n'est pas besoin d'être triste pour être sérieux ». Merci pour l'énergie et le temps que tu as consacré à ce travail et pour ta relecture bienveillante.

*A mes chefs,*

**Au docteur Jean NOUGUE.** Vous avez été le témoin de mes premiers pas en dermatologie et à l'origine de mon amour pour cette discipline. Vous avez toujours mis un point d'honneur à défendre notre spécialité et à la transmettre avec bienveillance. Votre implication dans la formation de vos internes n'a pas d'égal et je regrette que mes jeunes collègues n'aient pu avoir la chance de progresser à vos côtés. Un grand merci pour le don de vos livres, vous y avez laissé des petits papiers avec vos notes que je découvre avec plaisir au hasard de mes lectures.

**Au docteur Cristina LIVIDEANU.** J'ai eu plaisir à travailler avec toi durant ces 4 années. Merci d'avoir partagé ton expertise en dermatologie inflammatoire, et interventionnelle. Tu donnes beaucoup de toi pour les internes et le service. Ta gentillesse et ta disponibilité m'ont permis de progresser et prendre confiance. Merci pour l'énergie et le temps consacré à notre article. Merci pour la rigueur que tu mets chaque jour au service de tes patients. J'espère continuer à apprendre à tes côtés.

**Au docteur Céline PAUWELS.** Merci pour ta bonne humeur, ton encadrement et ton efficacité. J'ai énormément apprécié travailler à tes côtés.

**Au docteur Claire UTHURRIAGUE.** Merci pour ta gentillesse, ton écoute, ta disponibilité, et ta capacité à supporter mes râleries en macro. Tes conseils lors du choix de la spécialité après l'ECN mais également tout au long de mon cursus ainsi que le partage de ton expérience du post-internat m'ont été extrêmement précieux. Ta rigueur et tes qualités humaines sont des exemples pour moi. J'espère pouvoir m'en approcher en continuant à travailler à ton contact.

**Au docteur Perrine NICOL.** Merci d'avoir géré l'hospitalisation d'une main de maître. Merci pour ta bonne humeur et tes conseils.

**Au docteur Marianne THOMAS.** Nous n'avons pas eu l'occasion de travailler ensemble mais j'ai apprécié ta gentillesse et tes conseils bienveillants. Tu as su concilier admirablement travail et vie de famille.

**Au docteur Aude MAZA.** Merci pour ces 6 mois en dermatologie pédiatrique. Merci pour ta gentillesse et ton humilité. J'ai énormément appris du partage de ton expérience. Tu fais l'unanimité auprès de tous les internes.

**Au docteur Christian AQUILINA.** Merci pour ton « bonjour » toujours accompagné d'un « ça va ». Merci pour ta gentillesse et ton humanité. Tu es là pour nous rappeler que le terme vénérologie va de pair avec celui de dermatologie. Tes connaissances sont précieuses et j'admire la passion avec laquelle tu nous les transmets.

**Au docteur Charlotte POUPLARD,** merci de représenter la dermatologie à Castres et de m'avoir offert la possibilité d'accéder au post-internat.

**Aux docteurs Isabelle GALERA et Siham LOURARI.** Merci pour votre gentillesse et pour m'avoir fait partager votre expérience.

**Aux docteurs Sophie ARISTA, Karine SALIGNON, Willy VAILLANT, Frédéric DEGRAEVE, Julia MOEGLIN.** Merci pour votre accueil dans le service de médecine interne de Auch. Comme on se sent bien chez vous. Merci Sophie de m'avoir prêté ta thèse sur le pyoderma gangrenosum qui témoigne de la frontière tenue entre nos deux spécialités.

**Aux docteurs Emilie TOURNIER et Laurence LAMANT.** Quel bonheur de travailler avec vous. Votre excellence en dermatopathologie force le respect et une grande admiration. Merci pour m'avoir accueillie derrière vos microscopes et de m'avoir fait découvrir votre spécialité. Votre amour de la discipline transparait dans votre enseignement. Merci pour avoir donné de votre temps libre pour participer à notre congrès post-DES.

**Au docteur Philippe ROCHAIX.** Pour ta bienveillance, ton humour et tes encouragements. Tu es l'exemple même qu'excellence et humilité ne sont pas incompatibles. Merci pour tous tes conseils et toutes tes anecdotes (de l'histoire de l'abbé Saunière à l'intérêt des ventouses pour la cellulite). Merci aussi pour toute cette collection de livre en dermatologie !

**Au docteur Nathalie SPENATTO.** Merci pour ces 3 derniers mois de stage qui m'ont initié à une facette méconnue de la dermatologie. Grâce à ton expertise j'ai appris à mieux appréhender la complexité du diagnostic des pathologies vulvaires.

**Au docteur Marius MULARCZYK.** Pour ton affabilité, ta disponibilité et ta générosité. Merci pour toutes nos discussions qui stimulent ma curiosité. Je n'oublierai pas l'histoire du rosier et de la lavande.

**A Isabelle**, merci pour ces vendredi matins, pour ton expertise précieuse dans les hémangiomes et en éducation thérapeutique. Un bon souvenir de ton cours, grâce à toi tous mes proches ont été contraints au test de personnalité.

**A Carinette**, pour ta gentillesse, **A Pauline** pour participer activement à rendre agréable nos sessions de bloc, **A Céline** ton expertise en pansement nous sauve, **A Aurélie** et **Sandrine** pour nous faciliter la vie en consultation.

**Et aussi à toutes les personnes, personnel médical et paramédical** qui m'ont fait bénéficier de leur expérience qui ne s'apprend pas dans les livres.

*A ma famille,*

**A mes parents**, parce que sans vous je ne serai pas ici aujourd'hui. Parce que vous m'avez toujours accompagnée, soutenue sans jamais influencer aucun de mes choix. Parce que je sais que ça vous a fait de la peine quand je suis partie étudier à l'autre bout de la France il y a 10 ans et que depuis les retrouvailles sont toujours trop courtes. Merci pour chaque pensée magique pendant les examens, les petits colis surprises et réconfortants, votre amour inconditionnel. Que les mots sont faibles quand les sentiments sont grands. Simplement je vous aime.

**A Nico**, il n'y a rien que je puisse écrire ici qui soit suffisamment fort pour exprimer la joie de vivre chaque instant à tes côtés. Merci de me faire rire chaque jour, pour ta patience pendant toutes ces années d'études qui n'en finissent pas, pour trouver les mots justes lorsque ça ne va pas, pour ta force quand je n'en ai plus. Sans toi je ne suis rien.

**A ma sœur**, merci d'être là et pour tous ces moments partagés et les autres à venir. Tes réussites successives dans les études ont été des moteurs pour moi. Merci pour ton amour fraternel.

**A Louis**, merci pour ta bonne humeur et tes conseils pratiques. Je n'oublie pas non plus le dépannage au pied levé sur le parking de Larrey et tous petits les services rendus.

**A Aline**, merci de me confier ton fils, pour ta gentillesse inégalable, pour les (trop nombreux) services rendus, pour tes talents de cuisinière, pour ton aide pour mon déménagement, pour ton investissement dans notre recherche de logement et tous les conseils en immobilier (je ne désespère pas que nous trouvions notre bonheur), pour les allers-retours à l'aéroport, pour ces semaines de vacances à garder la maison et j'en oublie beaucoup. Je mesure ma chance.

**A Alain**, merci pour tes discussions qui animent les repas dominicaux, merci pour héberger tout mon bazar dans ton garage (promis je vais m'en occuper), merci pour cette après-midi à la pose des rideaux, pour ton écran d'ordinateur qui m'a bien aidé pour mon recueil de données.

*A mes amis,*

**A ma Zaza**, se perdre dans les couloirs à la recherche de son TD a du bon. Et nous voilà 10 ans plus tard sur le point de prêter serment. Que de bons souvenirs. Toutes ces soirées d'intégration, les nombreuses margaritas au Texxas café, ce WED où tu m'as « bordé », nos discussions de fi-filles, les découvertes culinaires (moi qui cuisinait tout à l'huile de tournesol avant de débarquer en terre toulousaine...), notre escapade londonienne, tes conseils toujours pertinents et bienveillants. Tu es brillante et je ne doute pas de ta réussite. Merci pour notre amitié, je n'ai qu'un souhait que celle-ci dure encore de nombreuses années.

**A ma Chloette**, merci pour ces soirées d'externat (ces dernières danses quand tout le monde avait déserté), pour ton écoute attentive quand ça ne va pas, pour tes qualités humaines qui feront de toi une pneumologue merveilleuse, pour ta générosité, pour ton hâle espagnol magnifique (oui mais bon attention au soleil quand même), pour ces quelques jours à Messanges et Ax, pour ton œil de photographe. Une page se tourne et la nouvelle est pleine de projets. Je suis tellement heureuse que l'on soit ensemble à Castres.

**A ma Bombas**, Merci d'être toi, merci d'être à l'écoute, merci pour ton autodérision, pour ton moral toujours au top, pour ton énergie folle, pour ta simplicité, pour nos tentatives pour comprendre la psychologie masculine, pour ton soutien sans faille. Cette année a été pour toi l'année de la maturité et des choix, je suis heureuse que tu aies trouvé un équilibre.

**A ma Cécile**, 14 ans et c'est toujours une joie de se retrouver. Souvenirs de nos pauses du midi à Fabert, ces vacances toulousaines à Eaunes (finalement tout me ramène à Toulouse) et à Barcelone, nos balades dans Paris. Merci pour ta générosité, ton ouverture d'esprit, toutes ces heures de discussions, ces belles découvertes parisiennes et celles à venir. Ton amitié m'est précieuse.

**A ma Sophie**, merci pour tes petites attentions, la façon que tu as de toujours faire en sorte que les gens se sentent bien, pour tes conseils bienveillants, pour le partage de la chambre au cap ferret, pour m'avoir fait découvrir ton Pays-Basque chéri, le lac bleu, le russe, artiga, pour tes « discussions » nocturnes amusantes malgré toi. Merci aussi pour l'organisation de ces

dernières vacances où tout était parfait. J'aimerais que les allers-retours Toulouse-Bordeaux soient plus fréquents.

**A Popo**, merci pour ton rire communicatif, la façon que tu as de ne pas te prendre au sérieux et nos fous-rires. Merci d'être revenue à Toulouse pour ces 6 mois. Merci de m'avoir motivée pour l'aquabike. Maintenant il faut vite que tu finisses cet internat au plus vite et que tu reviennes travailler à Toulouse pour que je t'adresse mes patients.

**A Mariechoue**, pour ta gentillesse, notre amour commun pour les bons restos, tes talents de photographe. Ta force de caractère et ton parcours sont impressionnants et forcent l'admiration. J'ai hâte de venir te voir en terres aveyronnaises.

**A mon Manu**, comme j'aime nos discussions et ta curiosité de tout. Merci pour tes attentions, ton humilité et ta générosité. Quelle chance de partager ces trois derniers mois à tes côtés. Je suis triste quand je pense à novembre mais quelque chose me dit que nous nous retrouverons plus vite que nous le pensons.

**A Floflo**, merci pour les soirées à ton appart à Saint-Michel (même si je persiste à penser que clairement la salle de bain était trop loin du canapé cette soirée-là), vivement les barbecues d'été chez vous.

**A Ducapus**, car tu es la personne la plus conciliante que je connaisse, merci pour la façon que tu as de te plier en 4 pour satisfaire tout le monde, pour l'organisation sans faille de nos dernières vacances, pour ce weekend ariégeois, pour ton coaching pendant les randonnées (tu peux le dire maintenant qu'on était perdu), pour arriver à supporter toutes les nanas, pour les soirées à ton appart, pour avoir toujours une bouteille de vin blanc dans ton frigo.

**A Lucille**, pour ta douceur et ta gentillesse.

**A Anaïs**, pour tes fous-rires qui font du bien au moral, ton naturel et ton auto-dérision.

**A Barty**, merci pour les nombreux « au Ramiers », ça me manque.

**A Popi**, pour le partage du canapé lit chez Flo et pour ta bonne humeur communicative.

**Et à tous les copains de l'externat, Margote, Marie, Quentin, Lucie, Vincent, Laurence, Guillaume** on a souffert avec ce concours mais surtout on a ri, on a dansé, on a chanté... Parce que même si depuis 4 ans on s'est un peu éloigné je n'oublie pas tous ces bons souvenirs qu'on a partagés.

**A Candice**, tu es un amour de nana ! Merci pour ton soutien. Je suis heureuse de voir que tu as trouvé ta voie. J'espère que nous nous reverrons très vite.

**Aux colocs auscitains, Leïla, Nicolas, Robin et Sarah**, merci pour ce semestre. Merci pour les discussions, les barbecues, les cocktails, cette soirée trop arrosée (Nico j'ai une dette envers toi pour le ménage du lendemain...), les pancakes, les repas partagés (finalement on a fait que manger je crois), pour cette chambre au premier étage et pour nos retrouvailles périodiques.

**A Lauriane**, merci ton écoute bienveillante sans jugement aucun, pour ta discrétion, ton empathie, les découvertes gastronomiques toulousaines.

**A Chloé et Isa**, les super nanas du 5B. Merci d'avoir été là pour ce semestre qui est passé crème grâce à vous, merci pour les brunchs, nos retrouvailles qui font du bien au moral, pour toutes nos discussions de tout et de rien passées et à venir.

*A mes co-internes qui ont fait de cet internat un souvenir merveilleux*

**A ma petite Maella**, merci pour d'avoir été toujours là, merci pour ton oreille attentive, merci d'avoir partagé mes peines et mes joies, merci pour ton soutien sans faille, merci pour tes conseils avisés, merci pour tous ces potins... Souvenirs des JDP, des DES arcachonnais, des weekends à Suduiraut, de nos conflits d'intérêts... Tu es toujours partante pour tout et avec le sourire. Merci pour tout ce que tu m'as apporté pendant ces 4 ans. Ces 3 mois à venir sans toi vont être difficiles !!

**A ma Lisa**, quel bonheur que tu aies choisi la dermatologie. Toujours le moral au top même quand tu râles c'est avec le sourire. Merci pour ton soutien, merci pour ces 4 années car malgré ton emploi du temps chargé tu as toujours été là pour moi. J'admire la façon avec laquelle tu as réussi à continuer à vivre ta passion pour la danse et ton internat. Merci d'être toi simplement. Tu m'as beaucoup manqué ces 6 derniers mois.

**A Aysha**, que de bons moments partagés. Merci pour ton extrême gentillesse, ta douceur et ta discrétion, ton caractère tellement accommodant, ton humilité toujours, tes avis éclairés en consultation, tes petits sms de soutiens qui font du bien. J'admire tes compétences et la façon dont tu as pris confiance en toi. Tu vas énormément me manquer.

**A Richette**, toujours posée, réfléchie et jamais stressée, que c'est apaisant de travailler avec toi. Nostalgie de ce weekend à Angers avec notre mascotte photobio et ce repas chez rémi.

**A Fifi**, merci pour ton adorabl-itude ! merci pour ton naturel, merci pour la façon dont tu te mets en quatre pour accommoder les autres, merci pour ton écoute, pour ton humilité, ton altruisme.

**A Chloé**, nous n'avons pas eu l'occasion de travailler ensemble mais merci pour ton rire qui résonne toujours dans les couloirs de Larrey.

**A Clot**, merci pour ton humour, ton naturel décontracté, merci de partager tes derniers achats modesques qui me font vivre par procuration quand mon compte en banque est limite, merci pour ton soutien, pour l'organisation de ce post-DES (triple pouces levés !!), pour partager mon amour des vidéo youtube à la con, pour ton sexy body sans fitness et ton bronzage permanent. Merci d'avoir choisi la team dermato toulousaine car sans toi ça n'aurait pas été pareil !

**A Elinette**, pour ta douceur, ta gentillesse qui font du bien quand ça ne va pas. C'est un bonheur de travailler avec toi.

**A Flo**, à notre amour déchu qui avait pourtant si bien commencé sur cette dune près d'Arcachon. Merci pour ton humour. Merci de supporter toutes ces nanas et de nous rappeler qu'il n'est jamais bon de se prendre au sérieux.

**A Marie**, merci pour ton brin de folie, ta spontanéité (et c'est peu dire), ta vivacité d'esprit.

**A ma Fradette**, merci pour ta bienveillance de chaque instant, pour ta bonne humeur inébranlable, pour ton soutien qui m'a été tellement précieux toute cette année, pour les citrons (il va falloir s'y remettre avant l'hiver), pour les sushis, pour le tbc et pour tout ce qui va arriver... Heureusement que tu seras avec moi pour les 6 mois à venir !!

**A Guigui**, pour ton rire, pour ton énergie, pour ta capacité à faire abstraction et ta force de caractère que j'admire, pour ton côté très fleur bleu.

**A Marion G**, merci pour ces 3 mois qu'on a partagé, merci pour ta spontanéité, ton autodérision, ton humour, ta façon de dédramatiser toutes les situations, merci pour ton aide de tous les instants.

**A Julie**, merci d'avoir fait un passage en dermato mais quel dommage que tu ne sois pas restée. Merci pour ta bonne humeur, ton rire et nos discussions.

**A petite Clot**, nous n'avons pas eu l'occasion de travailler ensemble mais j'aurai beaucoup aimé.

**A Kader** pour ta gentillesse de tous les instants et ce grand parapluie.

**A Majed**, merci pour ta générosité, pour les « çaaaa vaaaa Juliette ?? », ta bonne humeur et la façon que tu as de trouver du positif dans tout.

**A Shatha**, merci pour ta gentillesse et pour ton soutien.

*Et encore merci,*

**A Léonor et Mathieu** qui m'ont énormément aidé pour cette thèse, un chaleureux merci.

ETUDE DU PROFIL METASTATIQUE  
GANGLIONNAIRE COMME  
FACTEUR PRONOSTIQUE DE  
REPONSE A L'IPILIMUMAB

# Table des matières

---

|   |           |
|---|-----------|
| Table des matières .....  | 2         |
| Liste des abréviations .....  | 5         |
| Table des illustrations .....   | 7         |
| Figures .....   | 7         |
| Tableaux .....  | 7         |
| Annexes .....   | 7         |
| <b>Partie 1 : L'immunothérapie anticancéreuse par ipilimumab.....</b>   | <b>8</b>  |
| <b>1 Immunothérapie des cancers : Données générales .....</b>   | <b>8</b>  |
| 1.1 L'origine du concept thérapeutique.....   | 8         |
| 1.1.1 Concept d'immunosurveillance et découvertes des antigènes tumoraux .....  | 8         |
| 1.1.2 Concept d'immunoediting.....  | 9         |
| 1.2 Découverte du CTLA-4 et de son intérêt en thérapie anti-cancéreuse.....   | 12        |
| 1.2.1 Les checkpoints immunologiques ou « points de contrôle » .....  | 13        |
| 1.2.2 CTLA-4 : activité biologique.....   | 14        |
| 1.2.3 Inhibition pharmacologique du CTLA-4 dans la synapse immunologique .....  | 20        |
| <b>2 Traitement du mélanome par inhibiteur du CTLA-4 (ipilimumab).....</b>  | <b>21</b> |
| 2.1 Efficacité.....   | 21        |
| 2.2 Indications thérapeutiques.....   | 22        |
| 2.2.1 AMM, indications et posologie.....  | 22        |
| 2.2.2 Positionnement dans la stratégie thérapeutique.....   | 22        |
| 2.3 Problématiques liées à l'utilisation de la molécule .....   | 24        |
| 2.3.1 Faible taux de réponse mais survie prolongée .....  | 24        |
| 2.3.2 Long délai d'action .....   | 24        |
| 2.3.3 Nouvelles modalités de réponse imposant de nouveaux critères d'évaluation radiologique de la réponse au traitement..... | 24        |
| 2.3.4 Toxicité.....   | 26        |
| 2.3.5 Coûts.....  | 28        |
| 2.4 Intérêt de la sélection des patients potentiellement répondeurs.....  | 28        |
| 2.5 Critères prédictifs de la réponse à l'ipilimumab.....   | 28        |

|       |                             |    |
|-------|-----------------------------|----|
| 2.5.1 | Cliniques .....             | 28 |
| 2.5.2 | Anatomo-pathologiques ..... | 29 |
| 2.5.3 | Moléculaires.....           | 31 |
| 2.5.4 | Biologiques.....            | 32 |
| 2.5.5 | Radiologiques.....          | 35 |
| 2.5.6 | Génétiques .....            | 35 |

## **Partie 2 : Etude du profil métastatique ganglionnaire comme facteur pronostique de réponse à l'ipilimumab ..... 36**

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>Rationnels de l'étude et objectifs.....</b>  | <b>36</b> |
| 1.1      | Objectif principal.....   | 36        |
| 1.2      | Objectif secondaire .....   | 37        |
| <b>2</b> | <b>Matériel et méthodes .....</b>   | <b>37</b> |
| 2.1      | Design.....   | 37        |
| 2.2      | Population clinique étudiée.....  | 37        |
| 2.3      | Recueil des données.....  | 38        |
| 2.3.1    | Données démographiques et caractéristiques de la tumeur au diagnostic .....                   | 38        |
| 2.3.2    | Historique de la maladie cancéreuse .....   | 38        |
| 2.3.3    | Etat de la maladie à l'initiation du traitement par ipilimumab .....                          | 38        |
| 2.3.4    | Déroulement du traitement par ipilimumab .....  | 39        |
| 2.3.5    | Evaluation du traitement par ipilimumab.....  | 39        |
| 2.3.6    | Devenir des patients.....   | 39        |
| 2.4      | Analyse radiologique à l'inclusion .....  | 39        |
| 2.5      | Analyses statistiques .....   | 40        |
| <b>3</b> | <b>Résultats.....</b>   | <b>41</b> |
| 3.1      | Population.....   | 41        |
| 3.2      | Caractéristiques de la tumeur au diagnostic (tableau 1).....                                  | 41        |
| 3.3      | Caractéristiques à la première métastase .....  | 43        |
| 3.4      | Historique thérapeutique .....  | 43        |
| 3.5      | Evaluation scannographique à l'initiation du traitement par ipilimumab (annexes 4 et 5) ..... | 43        |
| 3.6      | Traitement par ipilimumab .....   | 43        |
| 3.7      | Réponses au traitement .....  | 45        |
| 3.8      | Analyses de survie .....  | 45        |
| 3.8.1    | Survie globale.....   | 45        |
| 3.8.2    | Survie sans progression.....  | 46        |

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.9      | Devenir .....  | 46        |
| 3.10     | Influence des métastases ganglionnaires actives sur la réponse thérapeutique à l'ipilimumab (annexe 4) ..... | 47        |
| 3.11     | Facteurs associés à la réponse thérapeutique à l'ipilimumab.....   | 48        |
| 3.11.1   | Interféron.....  | 48        |
| 3.11.2   | Nombre d'injections d'ipilimumab.....  | 48        |
| 3.11.3   | Nombre d'organes atteints avant traitement.....  | 49        |
| 3.11.4   | Influence du patron métastatique .....   | 49        |
| <b>4</b> | <b>Discussion .....</b>  | <b>50</b> |
| 4.1      | Impact du patron métastatique ganglionnaire sur la réponse thérapeutique à l'ipilimumab.....                 | 50        |
| 4.2      | Caractéristiques générales de la cohorte.....  | 50        |
| 4.3      | Un rôle potentiel de l'interféron .....  | 52        |
| 4.4      | Limitations .....  | 55        |
| <b>5</b> | <b>Conclusion.....</b>   | <b>57</b> |
|          | Références.....  | <b>58</b> |

# Liste des abréviations

---

ADCC : Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity  
Ag : antigène  
AJCC : American Joint Committee on Cancer  
AMM : Autorisation de mise sur le marché  
ASCO : American Society of Clinical Oncology  
Bcl-2 : B-cell lymphoma 2  
c-flip : Cellular FLICE-like inhibitory protein  
CD : cluster de différenciation  
CHU : Centre hospitalier universitaire  
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité  
CPAg : Cellules présentatrices d'antigènes  
CTCAE : common terminology criteria for adverse events  
CTLA-4 : Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4  
ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group  
EMA : European Medicines Agency  
EORTC : European organisation for research and treatment of cancer  
Fc : Fragment cristallisable  
FDA : Food and drug administration  
GM-CSF : Granulocyte macrophage colony-stimulating factor  
HR: hazard ratio  
IC : intervalle de confiance  
ICO : Inductible Costimulator  
IDO : Indoleamine 2,3-Dioxygenase  
IFN : Interféron  
IL : Interleukine  
IPI : Ipilimumab  
irAES : immune related Adverse Events  
irRC : Immune-related response criteria  
IUCT : Institut Universitaire du Cancer de Toulouse  
LDH : lactate deshydrogénase  
MDSC : Cellules myéloïdes suppressives  
NIVO : Nivolumab  
NK : Natural killer  
OS : overall survival (survie globale)

PCB : Placebo  
PD : Programmed death  
PD-1 : Programmed cell death 1  
PD-L : Programmed death-ligand  
PEMBRO : pembrolizumab  
PGE : Prostaglandine  
PI3K : Phosphoinositide 3-kinase  
RCP : Réunions de Concertations Pluridisciplinaires  
RECIST : Response evaluation criteria in solid tumours  
sMICA : soluble MHC class I polypeptide-related sequence A  
T-VEC : Thalimogene laherparepvec  
TAP : Thoraco-Abdominaux-Pelvien  
TCR : Récepteur des cellules T  
TDM : Tomodensitométrie  
TEP : Tomographie par Emission de Positrons  
TGF : Transforming growth factor  
TIL : Tumor infiltrating lymphocyte  
Treg : Lymphocytes T régulateurs  
UPCO : Unité de Pharmacie Clinique Oncologique  
VEGF : Vascular endothelial growth factor  
WHO : World Health Organization

# Table des illustrations

---

## Figures

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 : Emergence du concept d'immunoediting .....  | 10 |
| Figure 2 : Les trois phases de l'immunoediting .....   | 10 |
| Figure 3 : La phase d'élimination .....  | 11 |
| Figure 4 : Les checkpoints immunologiques .....  | 13 |
| Figure 5 : Fonctions des molécules de co-stimulation sur l'activation cellulaire T .....     | 15 |
| Figure 6 : Fonctionnement intrinsèque du CTLA-4 .....  | 16 |
| Figure 7 : Fonctionnement extrinsèque du CTLA-4 .....  | 17 |
| Figure 8 : Deux sites d'action distincts pour le CTLA-4 et PD-1 .....                        | 19 |
| Figure 9 : Pattern de réponse aux anti-CTLA-4 .....  | 26 |
| Figure 10 : Survie globale de l'ensemble de la population .....                              | 45 |
| Figure 11 : Survie sans progression de l'ensemble de la population .....                     | 46 |
| Figure 12 : Survie globale en fonction du statut ganglionnaire .....                         | 47 |
| Figure 13 : Les multiples rôles de l'interféron de type I dans l'immunité antitumorale ..... | 53 |

## Tableaux

|  |    |
|--|----|
| Tableau 1 : Principales caractéristiques de la tumeur au diagnostic.....                   | 41 |
| Tableau 2 : Principaux effets indésirables sous ipilimumab .....                           | 44 |
| Tableau 3 : Statut de la maladie des patients vivants aux dernières nouvelles .....        | 46 |
| Tableau 4 : Réponse au traitement en fonction de l'administration d'IFN .....              | 48 |
| Tableau 5 : Réponse au traitement en fonction du nombre d'injections d'ipilimumab .....    | 48 |
| Tableau 6 : Survie globale à 6 mois selon statut métastatique hépatique ou pulmonaire..... | 49 |

## Annexes

|  |    |
|--|----|
| Annexe 1 : Stadification de la sévérité des effets indésirables .....                    | 66 |
| Annexe 2 : Critères recueillis pour l'étude .....  | 67 |
| Annexe 3 : Grilles de lecture des scanners avant traitement par ipilimumab .....         | 68 |
| Annexe 4 : Evaluation scannographique pré-thérapeutique : métastases ganglionnaires..... | 69 |
| Annexe 5 : Evaluation scannographique pré-thérapeutique : autres métastases .....        | 70 |
| Annexe 6 : Survie globale à 6 mois en fonction de l'atteinte ganglionnaire .....         | 71 |

# Partie 1 : L'immunothérapie anticancéreuse par ipilimumab

---

## 1 Immunothérapie des cancers : Données générales

### 1.1 L'origine du concept thérapeutique

L'immunothérapie anti-cancéreuse, définie comme l'utilisation des réponses immunitaires de l'hôte pour lutter contre les tumeurs, a été introduite à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle par William B. Coley<sup>1</sup>, qui après avoir constaté plusieurs cas de régression tumorale spontanée chez des patients ayant développé un érysipèle, tenta d'injecter une culture bactérienne (streptocoques pyogenes et serratia marcescens) dans les tumeurs de plusieurs patients avec des résultats sporadiques très peu reproductibles.

#### 1.1.1 Concept d'immunosurveillance et découvertes des antigènes tumoraux

Le concept d'immunosurveillance a été décrit pour la première fois par Ehrlich en 1909 qui suggéra que les cellules tumorales étaient en permanence reconnues et éradiquées par le système immunitaire avant même que toute manifestation clinique apparaisse. Ce concept fut redéfini, dans les années 1950, par Burnet<sup>2</sup> qui confirma l'idée selon laquelle les lymphocytes pouvaient agir comme des sentinelles capables d'identifier et détruire toutes cellules transformées. Dans les années 90, la caractérisation des néo-antigènes tumoraux et la découverte de l'auto-immunité vint compléter la théorie de Burnet. A la lumière de ces découvertes, les années suivantes furent marquées par l'essor de multiples stratégies visant à stimuler la réponse immunitaire antitumorale (vaccination, traitements par interleukines ou thérapie cellulaire).

Dans ce contexte, le mélanome a été l'une des tumeurs à susciter le plus grand engouement du fait de son caractère hautement immunogène comme en témoignent :

- L'existence de phénomènes de régression spontanée<sup>3</sup>, marqués, à l'examen anatomopathologique, par la présence d'un infiltrat lymphocytaire T<sup>4</sup> et qui explique la survenue de métastase de mélanome de primitif inconnu.
- l'augmentation de l'incidence et le pronostic défavorable du mélanome chez les patients immunodéprimés<sup>5,6</sup>.
- L'association entre auto-immunité et survie chez les patients atteints de mélanome résecqué<sup>7</sup>.

- le vitiligo comme un facteur pronostic favorable chez les patients porteurs d'un mélanome<sup>8-10</sup>.
- l'identification de lymphocytes T circulants capables de reconnaître spécifiquement des antigènes tumoraux associés au mélanome<sup>11</sup>.
- l'existence d'une corrélation entre la densité de l'infiltrat lymphocytaire tumoral (« tumor infiltrating lymphocyte TIL ») et la survie. Les patients ayant un infiltrat diffus (« brisk ») survivaient 1 à 3 fois plus longtemps que les patients sans infiltrat<sup>12</sup>.

Cependant, malgré un effort de recherche important, aucun des concepts de vaccination, de traitement par les interleukines ou par la thérapie cellulaire n'a abouti à une amélioration significative du pronostic du mélanome métastatique.

### 1.1.2 Concept d'immunoediting

L'échec des stratégies d'immunothérapie conventionnelle et le développement de tumeurs chez des sujets immunocompétents attestaient de l'incapacité pratique du système immunitaire à reconnaître et éliminer en permanence toute cellule transformée. Le concept d'immunosurveillance semblait alors insuffisant, à lui seul, pour expliquer les interactions système immunitaire-cellules tumorales.

Une découverte déterminante va alors élargir le concept d'immunosurveillance à celui d'immunoediting. Dans une étude publiée en 2001, Shankaran et al<sup>13</sup> démontrèrent que les tumeurs qui se développaient au contact d'un système immunitaire non déficient étaient moins immunogéniques que celles qui se développaient chez des souris immunodéficientes (Figure 1). Cette observation suggéra que les tumeurs issues d'hôtes immunodéprimés étaient peu modifiées par le système immunitaire et donc fortement immunogènes tandis que les tumeurs issues d'hôtes immunocompétents avaient « mutées » afin d'échapper à la reconnaissance immunitaire antitumorale. Ainsi, l'idée selon laquelle le système immunitaire ne protège pas seulement contre la formation de tumeur mais façonne également leur immunogénicité est à la base du concept d'immunoediting. En plus de prévenir leur développement, le système immunitaire, paradoxalement, le favorise en sélectionnant des mutants résistants. Il est probable que ce phénomène survienne de façon continue néanmoins l'effet majeur du processus semble prédominer lors de la phase précoce de la croissance tumorale, quand la tumeur est histologiquement, mais non cliniquement, détectable. Il en résulte que l'immunogénicité de la plupart des tumeurs diagnostiquées a déjà été altérée.

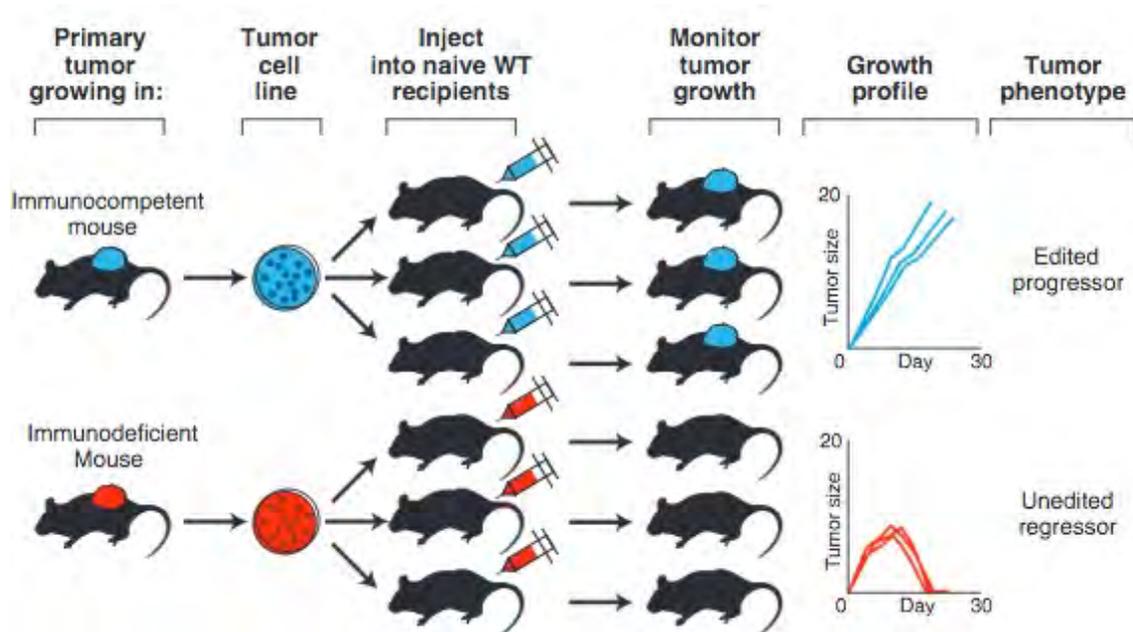


Figure 1: Emergence du concept d'immunoediting. Les tumeurs développées chez des souris immunocompétentes sont qualitativement différentes de celles développées chez des souris immunodéficientes. L'injection de lignées cellulaires tumorales issues de souris immunocompétentes (IC) chez des souris IC sauvages (WT) donne naissance à une tumeur (bleu). En revanche les lignées cellulaires tumorales issues de souris immunodéficientes (ID) injectées à ces mêmes souris IC sauvages sont détruites par le système immunitaire du fait de leur forte immunogénicité. (rouge).

D'après Schreiber et al, *cancer immunoediting : integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion Science mars 2011*<sup>14</sup>

L'immunoediting est donc un processus dynamique impliquant à la fois le système immunitaire inné et adaptatif et caractérisé par trois phases : élimination, équilibre et échappement. (Figure 2). Des facteurs externes peuvent influencer la dynamique du processus.

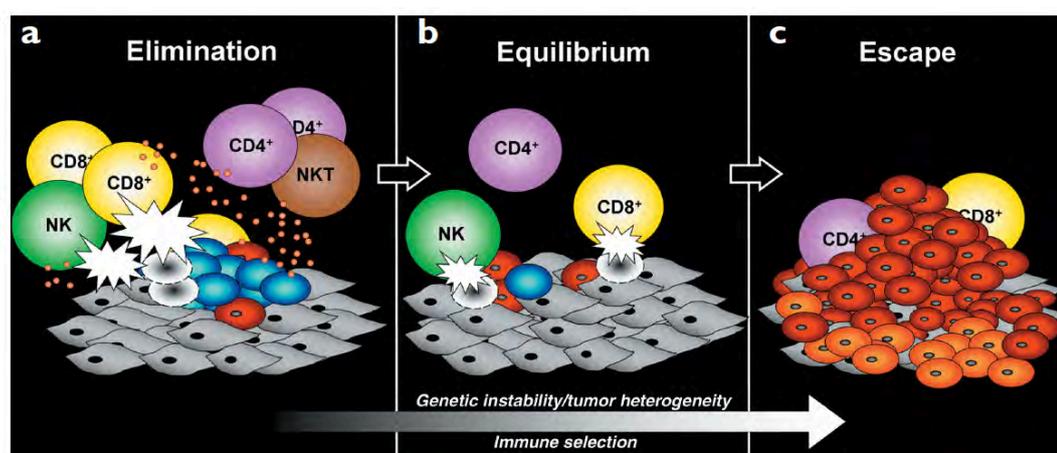


Figure 2 : Les trois phases de l'immunoediting : a. Elimination = immunosurveillance ; b. équilibre : processus par lequel le système immunitaire sélectionne et favorise la génération de cellules tumorales ayant la capacité de survivre à une attaque immunitaire ; c. échappement : la tumeur finit par échapper au système immunitaire. Cellules tumorales en développement (bleues), variants tumoraux résistants (rouges), stroma et cellules saines (grises), variants tumoraux résistants additionnels fig. c. (orange).

Dunn et al, *Cancer immunoediting: from surveillance to tumor escape Nature immunology 2002*<sup>15</sup>

### 1.1.2.1 L'élimination (Figure 3)

L'élimination englobe le concept initial d'immunosurveillance, et se caractérise par l'identification et l'éradication des cellules tumorales par le système immunitaire. L'invasion tumorale est responsable de la destruction du tissu sain. Cette destruction à l'origine d'une inflammation locale responsable du recrutement sur le site tumoral de cellules de l'immunité innée (lymphocytes NK, lymphocytes T  $\gamma\delta$ , macrophages et cellules dendritiques)<sup>15-17</sup>. Les débris cellulaires résultant de l'action des différentes cellules du système immunitaire sont ingérés par les cellules dendritiques qui les transportent vers les ganglions lymphatiques afin de stimuler les lymphocytes T qui vont, à leur tour, se rendre sur le site tumoral. L'immunité adaptative est alors enclenchée. Si la tumeur initiale est totalement détruite, l'élimination est la phase finale du processus d'immunoediting.

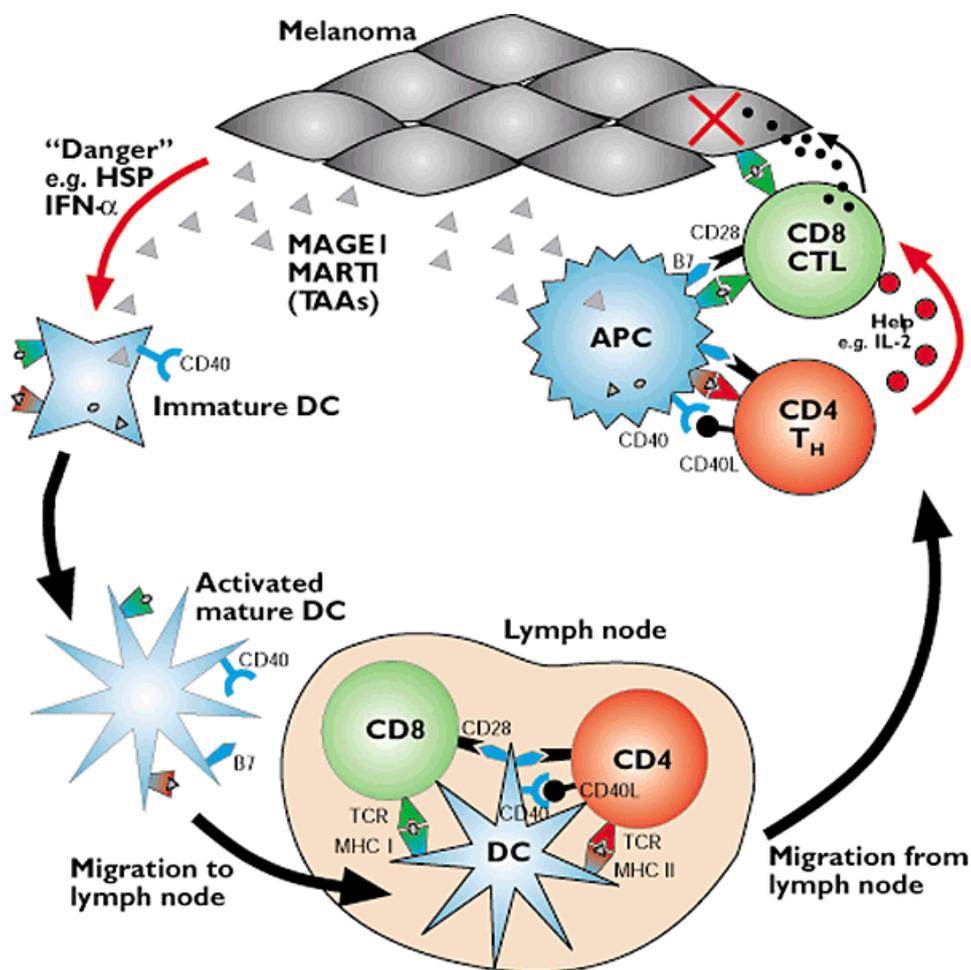


Figure 3 : La phase d'élimination : *Smyth et al A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy, nature immunology 2001*<sup>17</sup>

### 1.1.2.2 La phase d'équilibre

La phase d'équilibre est un état d'homéostasie entre destruction et survie tumorale. Les lymphocytes exercent une pression de sélection suffisante pour contrôler la prolifération

tumorale mais insuffisante pour éradiquer le lit tumoral. Koebel et al<sup>18</sup>, en utilisant différents anticorps monoclonaux dirigés contre certains composants du système immunitaire ont démontré que, contrairement à la phase d'élimination, lors de la phase d'équilibre seule l'immunité adaptative était mise en jeu. Les anticorps inhibant les fonctions NK ne favorisaient pas l'émergence de tumeurs contrairement aux anticorps dirigés contre les CD4 et CD8. La phase d'équilibre est la plus longue et peut persister plusieurs dizaines d'années.

Durant cette sélection darwinienne, la plupart des variants tumoraux ayant initialement échappé à l'immunosurveillance sont détruits mais de nouveaux variant apparaissent porteurs de multiples mutations leur permettant de se soustraire à la reconnaissance et à la destruction par le système immunitaire :

- perte de l'expression d'antigènes tumoraux ou de molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH)<sup>19</sup>,
- augmentation de l'expression de molécules anti-apoptotiques (bcl-2, c-flip...),
- production de molécules immunosuppressives (transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ )<sup>20</sup>, IL-10, PGE2, IDO (Indoleamine 2,3-DiOxygenase<sup>21</sup>)),
- recrutement dans le microenvironnement tumoral de cellules suppressives (lymphocytes T régulateurs<sup>22</sup>, cellules myéloïdes suppressives (MDSC)<sup>23</sup>...),
- expression de molécules (Fas-L, PD-L1..) favorisant l'apoptose des lymphocytes<sup>24</sup>.

### 1.1.2.3 L'échappement

L'échappement est la phase finale de la progression tumorale. Les cellules tumorales survivantes les plus agressives et les moins immunogènes vont alors se multiplier de façon incontrôlée.

## 1.2 Découverte du CTLA-4 et de son intérêt en thérapie anti-cancéreuse

Ainsi, le concept d'immunoediting a permis de comprendre que dès lors que la tumeur se développe, elle est envahie par de multiples acteurs du système immunitaire qui vont façonner son microenvironnement. Certaines de ces populations cellulaires (lymphocytes régulateur, MDSC, cytokines...) vont rendre ce microenvironnement moins favorable aux lymphocytes T effecteurs. Cependant la transition de la phase d'élimination à la phase d'équilibre ne dépend pas seulement du contrôle extrinsèque exercé par ces populations cellulaires sur les T effecteurs mais également d'un ensemble de molécules de costimulation dénommées « checkpoint immunologiques ».

## 1.2.1 Les checkpoints immunologiques ou « points de contrôle »

La découverte des mécanismes à la base du concept d'immunoediting a permis d'identifier de nouvelles molécules dénommées « checkpoints immunologiques » ou « points de contrôle ». Il s'agit d'un ensemble de récepteurs et ligands dont le rôle est de moduler l'activation et d'orienter les réponses des lymphocytes T effecteurs (Figure 4). L'un des premiers décrits est le cytotoxique T lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4), régulateur négatif de l'activation lymphocytaire dont le rôle est de bloquer la réponse immunitaire une fois qu'elle est enclenchée afin de ne pas provoquer de réponses excessives de type auto-immunité par exemple.

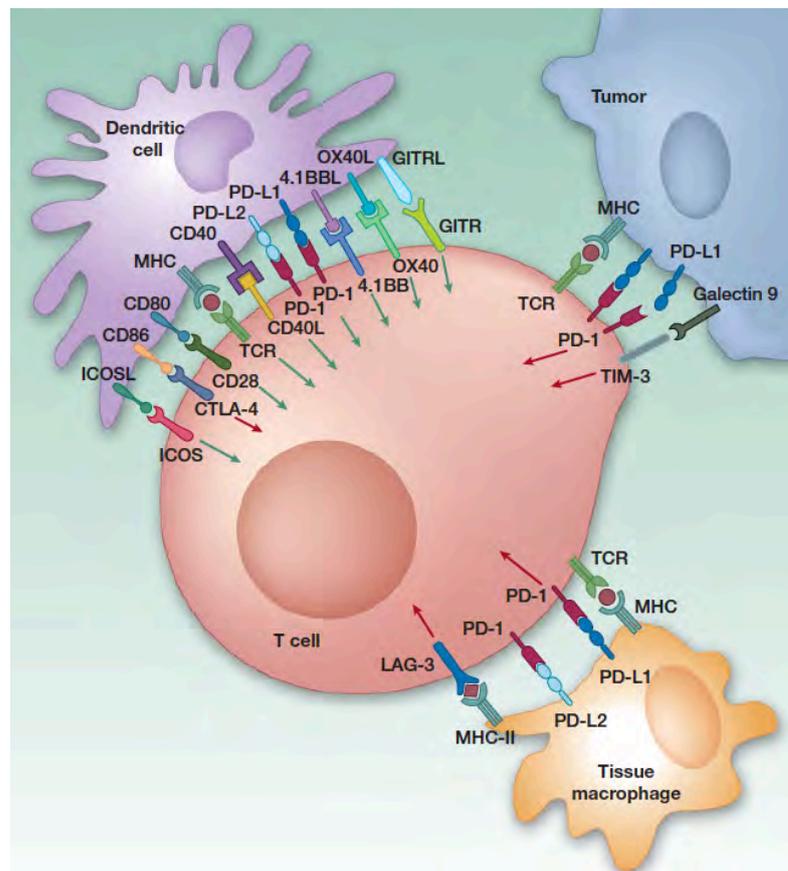


Figure 4 : les checkpoints immunologiques : molécules costimultrices ou co-inhibitrices régulant les interactions entre les cellules T, les cellules présentatrices d'antigène, macrophage.

*Ott et al CTLA-4 and PD-1/PD-L1 Blockade: New Immunotherapeutic Modalities with Durable Clinical Benefit in melanoma patients.*<sup>25</sup>

## 1.2.2 CTLA-4 : activité biologique

Le CTLA-4 (CD152), est une molécule appartenant à la superfamille des immunoglobulines, codée par un gène situé sur le bras long du sur le chromosome 2 (2q33)<sup>26,27</sup>. Son rôle dans la régulation négative de l'activation lymphocytaire a été démontré par l'utilisation d'anticorps monoclonaux et l'étude des souris déficientes en CTLA-4. Ces dernières décédèrent rapidement, à la 3<sup>ème</sup>-4<sup>ème</sup> semaine de vie, des suites de maladies auto-immunes sévères, en particulier myocardite et pancréatite secondaires à la prolifération massive et l'infiltration multi-organique de lymphocytes T autoréactifs<sup>28,29</sup>.

### 1.2.2.1 Rôle des molécules de co-stimulations dans l'activation lymphocytaire

L'activation complète des lymphocytes T naïfs requiert deux signaux de prolifération distincts<sup>30</sup> :

- Le signal 1 est antigène-spécifique et correspond à l'interaction du récepteur T (TCR) avec le complexe formé par une molécule du CMH et l'antigène (Ag).
- Le signal 2 dépend de la reconnaissance de molécules de co-stimulation se trouvant sur les cellules présentatrices d'antigène (CPAg) professionnelles.

Les molécules de co-stimulation les mieux définies pour les lymphocytes T sont deux protéines apparentées : B7.1 (CD80) et B7.2 (CD86)<sup>31-39</sup>, elles sont reconnues par le récepteur CD28 exprimés par tous les lymphocytes T. Les signaux provenant de la liaison du CD28 aux protéines B7 agissent conjointement aux signaux générés par la reconnaissance du complexe CMH-antigène (Ag) /TCR et sont nécessaires pour initier les réponses des lymphocytes T naïfs. En l'absence d'interaction entre CD28 et B7, l'engagement CMH-Ag/TCR isolément conduit à une absence de réponse des lymphocytes (anergie). Ce mécanisme concourt à la tolérance périphérique des lymphocytes T et à la prévention des réponses immunitaires dirigées contre les antigènes du soi. Lorsque le complexe B7 se lie au CTLA-4 lymphocytaire après reconnaissance CMH-Ag/TCR, il y a activation d'une voie de signalisation inhibitrice de l'activation et de la prolifération lymphocytaire. (Figure 5)

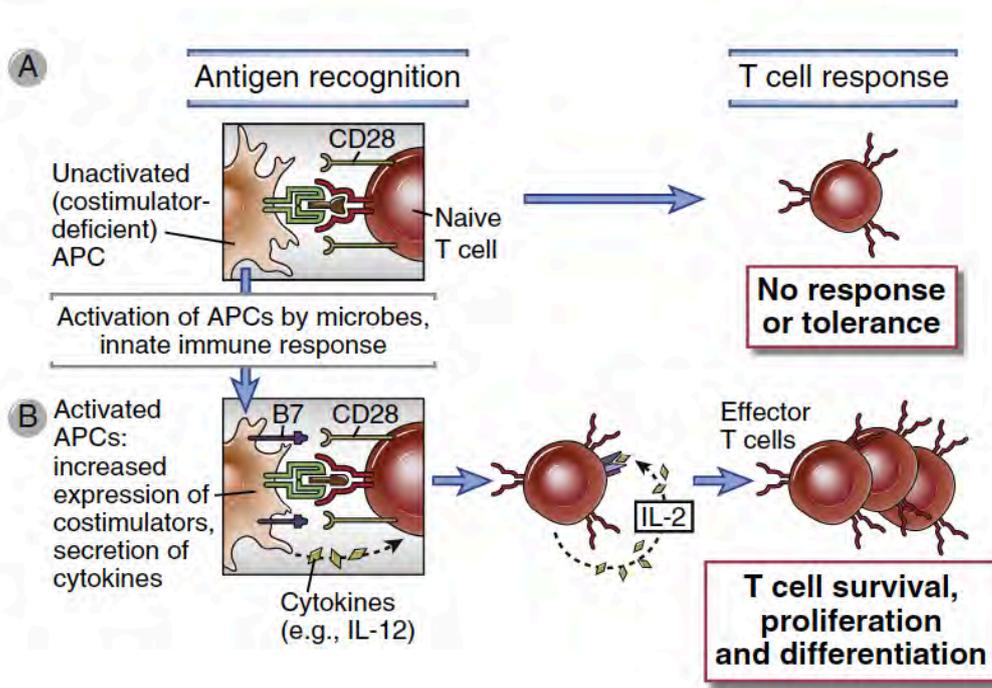


Figure 5 : Fonctions des molécules de co-stimulation sur l'activation cellulaire T. A. L'absence ou le nombre insuffisant de molécules de co-stimulation exprimé par les CPAg à l'état de repos empêche toute activation lymphocytaire (anergie). B. Les pathogènes et cytokines issues de l'activité de l'immunité innée stimulent l'expression, par les CPAg, de molécules de co-stimulation dont la molécule B7. Les CPAg sont alors capables d'activer les lymphocytes T naïfs.

Abbas et al Cellular immunology Eighth edition

### 1.2.2.2 CTLA-4 distribution cellulaire

L'expression du CTLA-4 est très majoritairement retrouvée sur les lymphocytes T. Elle a également été mise en évidence sur d'autres cellules immunes (les lymphocytes B activés<sup>40</sup>, les monocytes<sup>41</sup> et cellules dendritiques matures<sup>42</sup>), mais aussi des fibroblastes<sup>43</sup>, des cellules musculaires<sup>44</sup> et des tumeurs dont le mélanome<sup>45,46</sup>.

Le CTLA-4, lie via son domaine extracellulaire, les protéines B7, avec une plus forte affinité que le CD28<sup>47,48</sup>. De manière à respecter un rôle de régulateur négatif permettant un rétro-contrôle de l'activation lymphocytaire, l'expression du CTLA-4 n'est pas constante, et ne survient chez les lymphocytes T effecteurs qu'après leur activation. Sur les lymphocytes T régulateurs (Treg) il est exprimé de façon constitutionnelle<sup>29,30</sup>.

### 1.2.2.3 Mécanismes d'action du CTLA-4 : activités inhibitrices intrinsèque et extrinsèque

Les mécanismes précis par lesquels le CTLA-4 exerce son activité inhibitrice sont toujours discutés. Deux mécanismes sont évoqués :

- Une activité inhibitrice directe sur les T effecteurs (cellulaire intrinsèque -cis)

- et indirecte via les T régulateurs et les cellules présentatrices d'antigènes. (cellulaire extrinsèque-trans).<sup>51</sup>

#### 1.2.2.3.1 Activité inhibitrice intrinsèque du CTLA-4 (lymphocytes T effecteurs) (figure 6)

Plusieurs mécanismes cellulaires associés à l'activité inhibitrice intrinsèque du CTLA-4 ont été évoqués :

- Génération d'un signal inhibiteur par le CTLA-4 compromettant la fonction du TCR ou du CD28 et faisant intervenir le recrutement de phosphatases<sup>52</sup> ou encore de PI3K<sup>53</sup>. Aucune voie de signalisation cellulaire consensuelle n'a pu être mise en évidence.
- Liaison compétitive CTLA-4 / CD28 avec le complexe B7, en faveur du CTLA-4 induit par l'activation lymphocytaire du fait d'une plus forte affinité pour CD80 et CD86<sup>54</sup>.
- Altération des capacités d'adhésion et d'interaction des cellules T aux cellules présentatrices d'Ag (CPAg) compromettant une liaison stable entre ces deux acteurs immunitaires<sup>55</sup>.

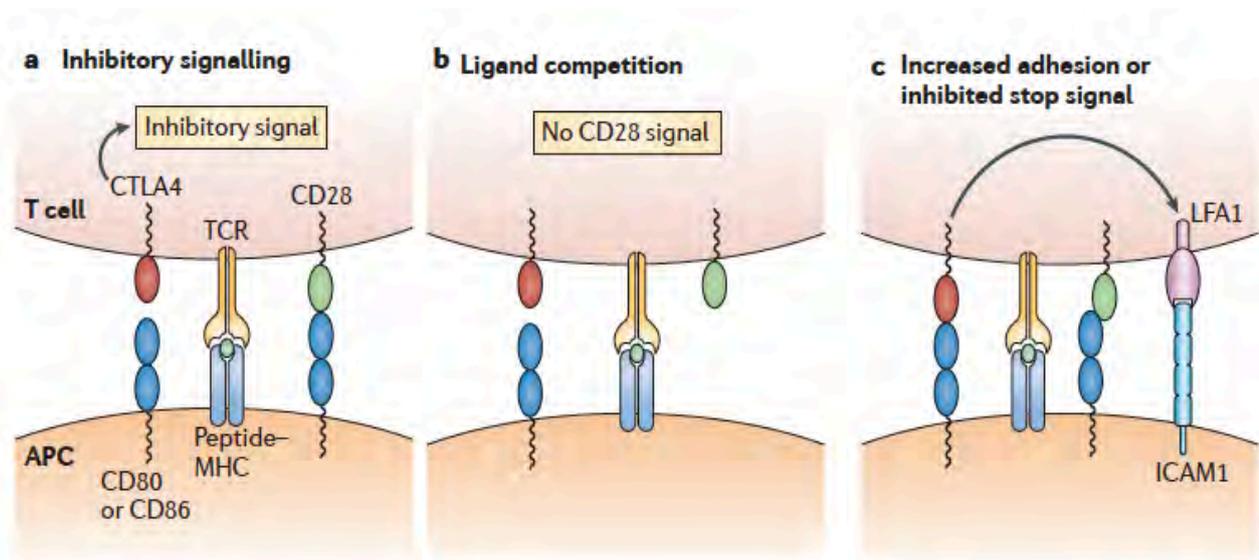


Figure 6 : Fonctionnement intrinsèque du CTLA-4 : a. génération d'un signal inhibiteur ; b. compétition avec le récepteur CD80/86 empêchant sa liaison avec CD28 ; c. Altération des capacités d'adhésion et d'interaction des cellules T aux cellules présentatrices d'Ag

*adapté de Walker et al ; the emerging role of CTLA4 as a cell extrinsic regulator of T cell responses.*

#### 1.2.2.3.2 Activité inhibitrice extrinsèque via son expression sur les lymphocytes T régulateurs (figure 7)

L'activité inhibitrice intrinsèque du CTLA-4 n'explique pas la fonction activatrice du CTLA-4 sur les lymphocytes T régulateurs où il est exprimé de façon constitutionnelle<sup>49,50</sup>. Différentes actions extrinsèques du CTLA-4 ont été suggérées :

- Stimulation de l'activité enzymatique de l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO-1) responsable d'une inhibition de la prolifération cellulaire T par interaction avec les CPAg<sup>56,57</sup>.
- Stimulation de la production de cytokines régulatrices dont le but est d'inhiber les CPAg et lymphocytes T (TGFβ)<sup>58</sup>
- Epissage alternatif d'un ARNm codant pour une molécule CTLA-4 soluble sans domaine transmembranaire qui pourrait agir de manière paracrine<sup>59</sup>.
- Réduction du niveau d'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86 sur les CPAg par les Lymphocytes T régulateurs. Ce phénomène serait secondaire à un processus de trans-endocytose par lequel l'interaction du CTLA-4 avec chacun de ses ligands pourrait être à l'origine d'un transfert de ligand des CPAg à des vésicules contenant des molécules de CTLA-4 sur les cellules lymphocytaires T. Suite à cette endocytose les ligands seraient dégradés dans les lysosomes. Ainsi, en plus d'entrer en compétition avec ses ligands, le CTLA-4 pourrait également physiquement les supprimer<sup>60</sup>.

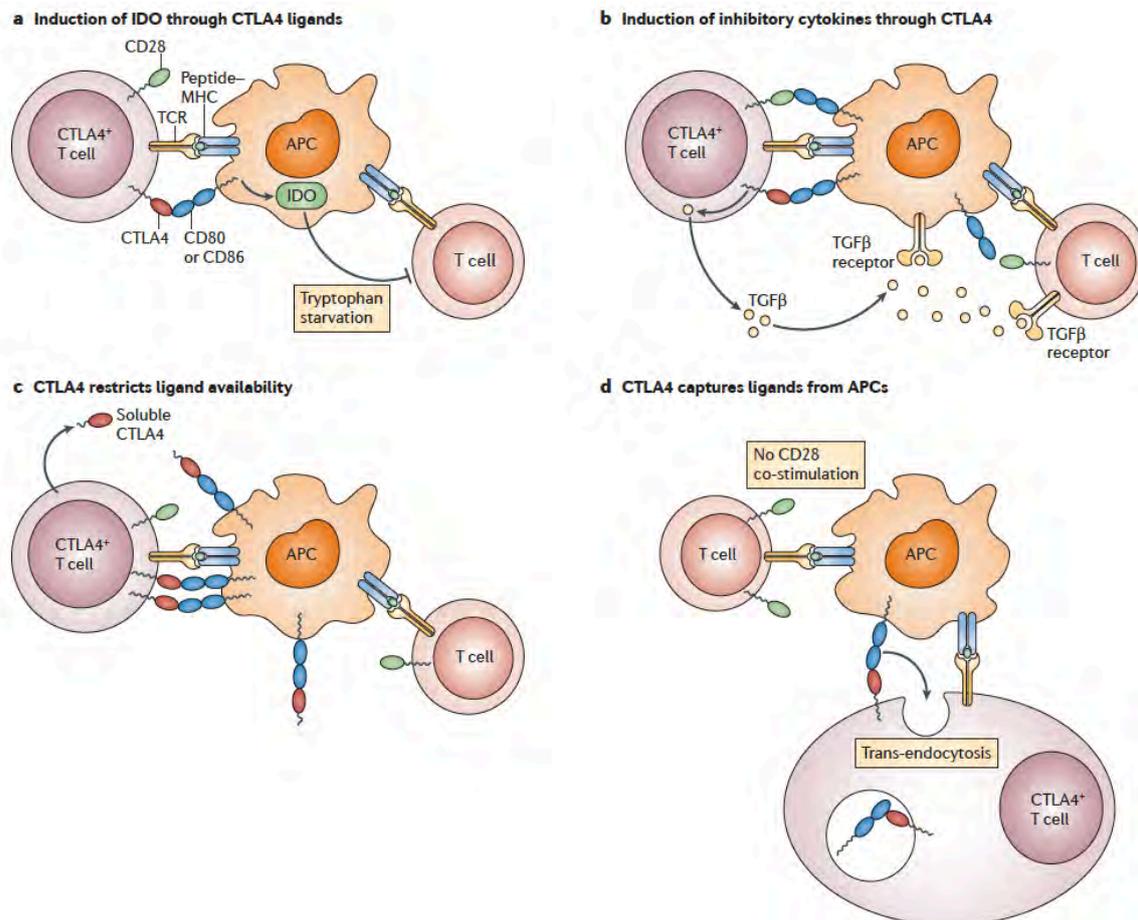


Figure 7 : Fonctionnement extrinsèque du CTLA-4 : a. Stimulation de l'activité enzymatique de l'IDO-1 responsable d'une inhibition de la prolifération cellulaire T ; b. Stimulation de la production de cytokines régulatrices inhibitrices des CPAg et lymphocytes T (tels que le Tumor growth factor β (TGFβ)) ; c. Epissage alternatif d'un ARNm codant pour une molécule CTLA-4 soluble sans domaine transmembranaire qui pourrait agir de manière paracrine d. Réduction du niveau d'expression des molécules de co-stimulation CD80 et CD86 sur les CPAg.

*Daprès Walker et al ; the emerging role of CTLA4 as a cell extrinsic regulator of T cell responses.*

L'action du CTLA-4 dans le processus d'activation / inhibition des cellules de l'immunité après reconnaissance antigénique semble être multiple.

#### *1.2.2.4 Positionnement du CTLA-4 dans le cycle immunologique d'activation lymphocytaire*

L'une des caractéristiques les plus remarquables du système immunitaire est qu'il est capable de répondre à une variété considérable de pathogènes sans pour autant réagir aux antigènes de l'individu (soi). Cette absence de réponse est qualifiée de tolérance immunitaire et est le résultat d'un processus de maturation complexe des lymphocytes T. La première étape a lieu dans le thymus, où les lymphocytes immatures prolifèrent et génèrent un large répertoire de TCRs via la recombinaison somatique de segments de gènes codant pour les régions variables du TCR. Le processus de sélection commence alors et les cellules T avec une forte réactivité aux antigènes du soi sont détruites dans le thymus. Cette étape est dénommée tolérance centrale<sup>61</sup>. Cependant ce processus est imparfait et des cellules T autoreactives vont alors migrer vers les organes lymphoïdes secondaires. La destruction de ces lymphocytes T autoréactifs (tolérance périphérique) fait intervenir plusieurs molécules dont le CTLA-4.

Les cellules tumorales développent, lors de la phase d'équilibre, des moyens d'échapper au système immunitaire. Ainsi l'absence de réponse cellulaire T aux antigènes tumoraux présentés par les CPAg dans les ganglions périphériques peut s'expliquer, en partie, par le détournement, par la tumeur, des mécanismes de tolérance périphérique. Au niveau du ganglion, les antigènes dérivés du mélanome primitif sont présentés par les cellules présentatrices d'antigène aux lymphocytes naïfs. La reconnaissance de l'antigène par un lymphocyte naïf induit son activation. Le CTLA-4 apparaît alors 24 à 48 heures après, et en se fixant à B7 exprimé sur la cellule présentatrice d'antigène, entraîne une désactivation lymphocytaire en empêchant la production d'IL-2 et la progression cellulaire.<sup>62</sup> Ainsi le CTLA-4 régule l'activation des lymphocytes T durant leur interaction initiale avec les CPAg dans le compartiment ganglionnaire lors du priming lymphocytaire. A l'inverse, le PD-1, une autre molécule de co-stimulation inhibitrice, cible des inhibiteurs des checkpoints immunologiques de deuxième génération (nivolumab et pembrolizumab) joue un rôle, plus tardif, après l'activation des lymphocytes T, et de façon prédominante dans les tissus périphériques<sup>63</sup>. (Figure 8)

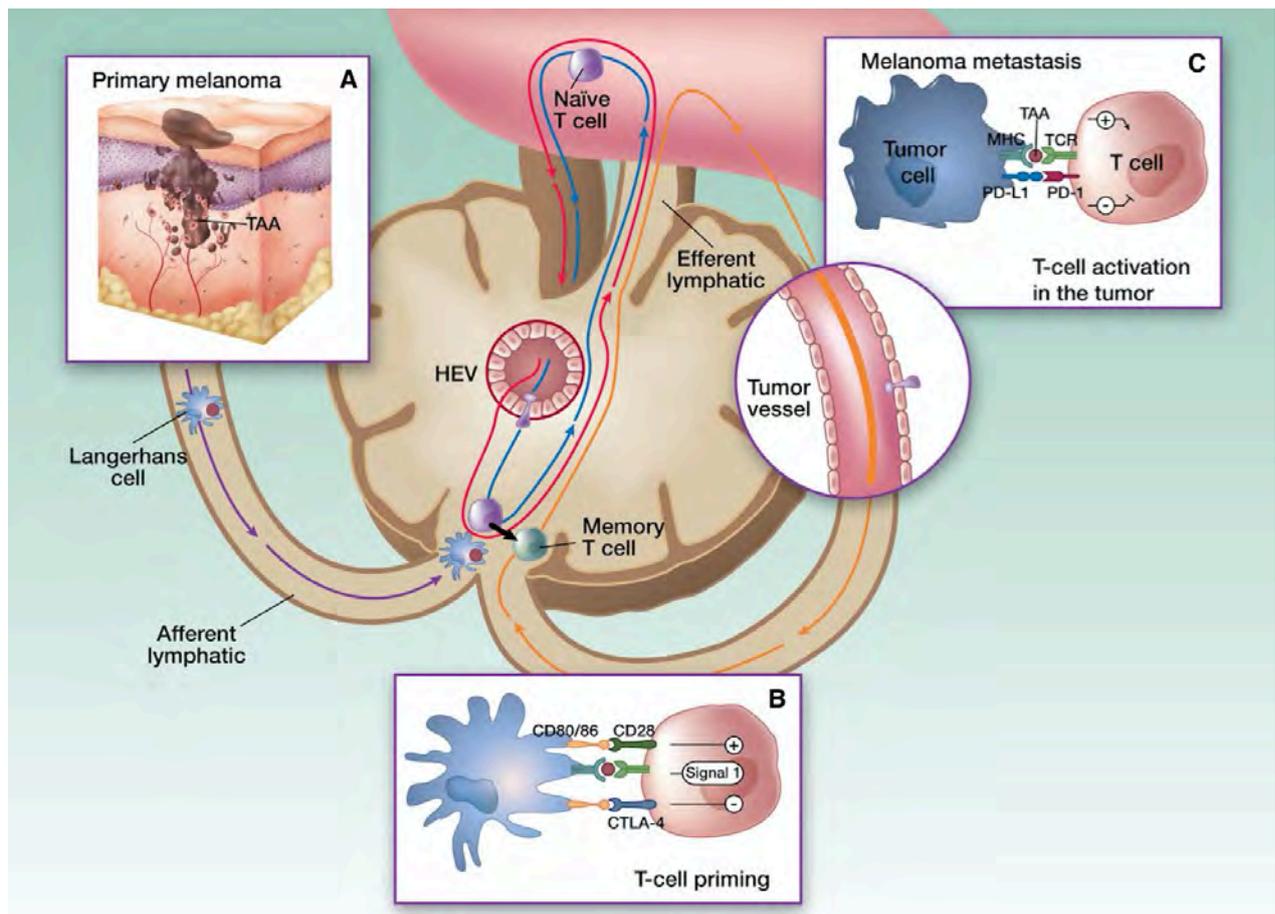


Figure 8 : Deux sites d'action distincts pour le CTLA-4 et PD-1.

- Après apprêtement des antigènes tumoraux (TAA), les cellules de Langerhans et autres cellules présentatrices d'antigène migrent vers les ganglions lymphatiques jusqu'au premier ganglion de la zone de drainage (ganglion sentinelle) afin de présenter les TAA aux lymphocytes T naïfs.
- Lorsqu'un TAA est présenté à une cellule T correspondante, l'activation complète de ce dernier nécessite un premier signal médié par le TCR et un deuxième signal dit de costimulation via l'interaction CD28-CD 80/86 (B7). L'activation peut être interrompue lorsqu'un troisième signal médié par l'interaction entre le CTLA-4 et CD 80/86 (B7) est mise en jeu. Ce phénomène survient 24-48 heures après amorçage des lymphocytes T.
- En cas d'activation complète, le lymphocyte va alors proliférer et acquérir un phénotype mémoire et différentes molécules d'adhésion lui permettant de rejoindre le site tumoral où il va être en mesure de se réactiver à la suite d'une nouvelle présentation des mêmes TAA. Lorsque la cellule T mémoire est recrutée sur le site tumoral et activée lors d'une nouvelle présentation des TAA, l'activation peut être perturbée par la liaison du PD-1 avec son ligand PD-L1 exprimé par la cellule tumorale de façon constitutionnelle ou dans un contexte d'inflammation.

HEV : high endothelial venule, TAA : tumor-associated antigens

Adapté de Ott et al *CTLA-4 and PD-1/PD-L1 Blockade: New Immunotherapeutic Modalities with Durable Clinical Benefit in Melanoma Patients Clin Cancer Res* Octobre 2013

## 1.2.3 Inhibition pharmacologique du CTLA-4 dans la synapse immunologique

### 1.2.3.1 Etudes pré-cliniques de l'Intérêt du blocage du CTLA-4 par anticorps monoclonaux en immunothérapie anti-cancéreuse

Dans des modèles murins, une déficience constitutionnelle en CTLA-4 conduit à un décès précoce par infiltration lymphocytaire auto-immune multi-organes massive<sup>28,29</sup>, soulignant le rôle essentiel du CTLA-4 en tant que régulateur négatif des réponses cellulaires T médiées. De même, il a été démontré qu'un blocage secondaire du CTLA-4 conduisait à une augmentation des réponses lymphocytaires T<sup>64</sup>. Ce blocage était rendu possible grâce à un anticorps monoclonal formé de la fusion du domaine extracellulaire de la molécule avec le fragment Fc modifié d'un anticorps.

Dès 1996, des résultats en faveur d'un effet bénéfique du blocage du CTLA-4 sur l'induction d'une immunité antitumorale durable étaient rapportés<sup>65</sup>. L'équipe de Leach et al démontra que le blocage du CTLA-4 par un anticorps bivalent non stimulant pouvait accélérer le rejet de tumeurs coliques de façon durable.

Des cellules tumorales coliques exprimant le récepteur B7 étaient transplantées dans des souris BALB/c. Deux groupes étaient traités par injections intrapéritonéales itératives d'anti-CTLA-4 ou anti-CD28 et un groupe contrôle n'était pas traité. Toutes les souris du groupe anti-CD28 et du groupe contrôle développèrent de petites tumeurs à croissance progressive sur 5 à 10 jours qui régressèrent secondairement, chez 8 des 10 souris, 23 jours après les injections. Les 2 tumeurs qui ne régressèrent pas restèrent stables pendant 90 jours. A l'inverse, 3 des 5 souris traitées par anti-CTLA-4 développèrent de tumeurs de très petite taille qui régressèrent toutes complètement au 17<sup>ème</sup> jour. Ces premiers résultats étaient encourageants mais non spectaculaires puisque l'expression de B7 résultait en un rejet rapide de la tumeur même en l'absence de CTLA-4. Néanmoins ils confirmaient que les anti-CTLA-4 n'empêchaient pas le rejet tumoral.

L'équipe renouvela l'expérience avec des tumeurs n'exprimant pas B7 et observa cette fois que toutes les souris non traitées ou traitées par anti-CD28 développèrent progressivement des tumeurs qui imposèrent leur euthanasie au 35<sup>ème</sup> jour de la transplantation. A l'inverse, les tumeurs des souris traitées par anti-CTLA-4 régressèrent complètement après une courte période de progression. Aucune récurrence ne fut notée après une période de 90 jours.

Enfin les auteurs ont cherché à déterminer si ce premier rejet conférait une immunité prolongée et permettait une protection durable contre une seconde transplantation tumorale. Les mêmes tumeurs étaient alors à nouveau transplantées chez l'ensemble des souris déjà traitées. Toutes les souris contrôles développèrent de façon progressive des tumeurs à croissance rapide contre une seule des souris précédemment immunisée par anti-CTLA-4 démontrant que les anti-CTLA-4 pouvaient également induire une mémoire immunologique.

Ainsi cette publication a démontré que la suppression du signal inhibiteur médié par le CTLA-4 pouvait stimuler l'immunité antitumorale. Ces résultats furent par la suite confirmés dans le cadre du mélanome avancé<sup>66,67</sup>.

### *1.2.3.2 Mécanismes sous-tendant le rôle anti-tumoral du blocage du CTLA-4 : une action synergique sur les lymphocytes T régulateurs et effecteurs*

Les lymphocytes T effecteurs étaient initialement considérés comme le compartiment cellulaire cible principal<sup>62</sup> des inhibiteurs du CTLA-4. Les modèles actuels plaident en faveur d'un mécanisme d'action impliquant également les T régulateurs via leur déplétion ou la limitation de leur fonction immunosuppressive.

Il a été démontré que l'efficacité optimale des anti-CTLA-4 n'était obtenue que par une action synergique sur les lymphocytes T effecteurs et les lymphocytes T régulateurs<sup>68</sup>. Les inhibiteurs du CTLA-4 seraient responsables d'une activation et d'une prolifération des lymphocytes T effecteurs, et d'une déplétion des lymphocytes T régulateurs à l'origine d'une augmentation du ratio intra-tumoral T effecteurs/T régulateurs.

Simpson et al<sup>69</sup> se sont particulièrement intéressés aux mécanismes sous-tendant cette augmentation du ratio des T effecteurs sur les T régulateurs. Leurs recherches ont montré que l'action des anti-CTLA-4 se traduisait, au niveau du microenvironnement tumoral, par une augmentation des T effecteurs et une réduction sélective des T régulateurs. Cette réduction sélective s'explique, en partie, par l'expression d'une isoforme du récepteur au fragment Fc des immunoglobulines G sur les macrophages M1 péri-tumoraux, le FcγRIV. Les macrophages M1 porteurs du récepteur FcγRIV interagissent avec les anticorps anti CTLA-4 qui se lient au récepteur CTLA-4 des lymphocytes T régulateurs. Cette liaison permet la destruction des lymphocytes T régulateurs via un mécanisme de cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). Cette découverte souligne l'influence de la composition du microenvironnement tumoral sur l'efficacité de l'immunothérapie.

## **2 Traitement du mélanome par inhibiteur du CTLA-4 (ipilimumab)**

### **2.1 Efficacité**

L'ipilimumab (IPI) a été la première immunothérapie à démontrer une amélioration en termes de survie globale des patients atteints de mélanome avancé<sup>70,71</sup>.

Il a été évalué dans une étude randomisée en double aveugle conduit par Hodi et al<sup>70</sup> chez 676 patients porteurs d'un mélanome métastatique ou avancé non résecable et ayant déjà

reçu un traitement systémique. 3 groupes ont été comparés : ipilimumab 3 mg/kg/jour plus placebo (IPI+PCB), ipilimumab plus vaccin peptidique gp100 (IPI+gp100) ou gp100 plus placebo (IPI+PCB). La médiane de survie globale était significativement supérieure dans les groupes IPI+PCB et IPI+gp100 en comparaison avec le groupe gp100+PCB (11, 2 et 10.12 mois contre 6,4,  $P < 0.001$ ). Les taux de survie globale à un an et à deux ans étaient respectivement de 45.6 % et 23,5 % pour IPI+PCB contre 25,3 et 13.7 % pour gp100+PCB et de 43,6 % et 21.6 % pour IPI+gp100.

Robert et al<sup>71</sup> ont publié un second essai clinique de phase III chez 502 patients non traités. La survie globale était significativement augmentée avec l'ipilimumab (10 mg/kg/3 semaines, 4 injections) en association avec la dacarbazine en comparaison avec la dacarbazine plus placebo (11,2 mois contre 9,1 mois). La survie globale à 1, 2 et 3 ans était également significativement augmentée chez les patients ayant reçu le traitement par l'ipilimumab et dacarbazine ; 47,3, 28,5 et 20,8 % respectivement contre 36,3, 17,9 et 12,2 % pour le groupe placebo et dacarbazine ( $p < 0.001$ ).

Outre une efficacité jusqu'à présent jamais obtenue pour le traitement du mélanome, ces 2 essais prouvaient en thérapeutique humaine la réalité du concept d'immunothérapie des cancers.

## **2.2 Indications thérapeutiques**

### **2.2.1 AMM, indications et posologie**

L'agence européenne du médicament (EMA) a accordé en 2011 une autorisation de mise sur le marché (AMM) à l'ipilimumab pour le traitement du mélanome métastatique (avancé) stade III non résecable ou stade IV à la dose de 3 mg/kg toutes les 3 semaines pour un total de 4 doses<sup>72</sup>.

### **2.2.2 Positionnement dans la stratégie thérapeutique**

Lors de l'obtention de l'AMM en 2011, l'ipilimumab seule molécule à démontrer un bénéfice en terme de survie dans le traitement du mélanome métastatique avancé pouvait être proposé en première ligne de traitement chez les patients porteurs d'un mélanome métastatique non résecable non muté BRAF.

Par la suite, deux nouvelles molécules, le nivolumab (NIVO) et le pembrolizumab (PEMBRO), anticorps monoclonaux anti-PD1, un autre check point immunologiques exprimé par les lymphocytes T, B et cellules myéloïdes majoritairement au niveau du microenvironnement tumoral, ont obtenu une AMM en 2015.

Par rapport à l'ipilimumab, le nivolumab<sup>73</sup> (NIVO) et le pembrolizumab<sup>74</sup> (PEMBRO) ont démontré leur supériorité en termes de taux de réponses, survie sans progression et survie globale. Ils sont donc désormais privilégiés en première intention chez les patients porteurs d'un mélanome métastatique non résecable non muté BRAF.

Par ailleurs, outre la question de la place de chaque molécule dans la stratégie thérapeutique, se pose la difficulté de savoir quelle est la séquence de prescription optimale de ces différentes thérapeutiques. Les résultats de l'essai de phase II CheckMate 064<sup>75</sup> ont été publiés en juillet 2016. Au total, 120 patients étaient randomisés dans 2 bras de traitement : nivolumab monothérapie toutes les 2 semaines pendant 12 semaines suivi d'ipilimumab toutes les 3 semaines pour 4 injections ou l'inverse ipilimumab suivi de nivolumab. En terme de taux de réponse à la 25<sup>ème</sup> semaine, l'administration de nivolumab puis ipilimumab semble plus efficace avec 41 % de réponse contre 20 % en cas d'administration d'ipilimumab suivi de nivolumab.

L'intérêt de l'association des anti-CTLA-4 et anti-PD-1 a fait l'objet de plusieurs études. L'essai CheckMate 067<sup>73</sup> a comparé 3 bras de traitement : NIVO + IPI versus IPI versus NIVO et a mis en évidence des médianes de survie respectives de 11,5 mois versus 6,9 et 2,9 mois. Les taux de réponse étaient de 57,6, 43,7 et 19 % respectivement. Cette efficacité est cependant obtenue au prix d'une forte toxicité puisque la fréquence des effets indésirables de grade 3 ou 4 étaient de 55 % contre 27 % pour l'ipilimumab seul. L'association nivolumab et ipilimumab a été approuvée aux Etats-Unis en octobre 2015 mais n'est pas, pour le moment, autorisée en France en dehors des essais cliniques.

Une autre perspective importante est celle du potentiel adjuvant de l'ipilimumab. La molécule a obtenu une extension d'indication en traitement adjuvant chez des patients porteurs d'un mélanome métastatique de stade III avec atteinte ganglionnaire > 1 mm après exérèse chirurgicale complète dont lymphadenectomie. Cette nouvelle indication s'appuie sur les résultats d'un essai de phase III<sup>76</sup> démontrant que l'utilisation d'ipilimumab à la posologie de 10 mg/kg permettait une réduction du risque de récurrence de 25 % par rapport au placebo. La survie sans récurrence à 3 ans était de 46,5 % dans le groupe ipilimumab contre 34,8 % dans le groupe placebo. L'étude a été menée chez 951 patients porteurs d'un mélanome métastatique de stade III ayant bénéficié d'une exérèse chirurgicale avec curage ganglionnaire. Etaient exclus les patients présentant une atteinte ganglionnaire de moins de 1 cm de diamètre ou des métastases en transit ou ayant reçu un traitement systémique au préalable. L'ipilimumab était prescrit à la posologie de 10 mg/kg toutes les 3 semaines pour 4 injections puis tous les 3 mois pendant 4 ans. A cette posologie, outre la question du coût du traitement, se pose le problème de la toxicité puisque 52 % des patients ont interrompu le traitement du fait des effets indésirables et 55 % des patients ont présenté des effets indésirables de grade 3-5 dont 5 en sont décédés. (1 %). Les résultats de l'essai de phase III ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) 1609 qui compare les deux posologies d'ipilimumab (3 et 10 mg/kg) à l'interféron  $\alpha$ -2b devraient être publiés d'ici 2 à 3 ans.

## 2.3 Problématiques liées à l'utilisation de la molécule

### 2.3.1 Faible taux de réponse mais survie prolongée

Bien que le taux de réponses objectives à l'ipilimumab soit de l'ordre de 11 % dans les études de phase III<sup>70</sup>, pour les patients répondeurs il existe un bénéfice indéniable en termes de survie à long terme.

Shadendorf et al<sup>77</sup>, ont publié une méta-analyse de 1861 patients traités par ipilimumab issus de 10 études de phase II et III pour lesquelles les données de survie étaient disponibles. Cette étude a rapporté une survie globale médiane de 11,4 mois (95% CI : 10,7 – 12,1), une proportion de 20 % de patients encore en vie à 3 ans et une survie de plus de 10 ans chez un minime sous-groupe de patient (n=5).

Le taux de survie à 5 ans des patients de l'étude de phase III de Robert et al était de 18,2% (IC 95% : 13,6 – 23,4) pour les patients traités par ipilimumab plus dacarbazine contre 8,8 % (IC 95% : 5,7% - 12,8) pour les patients traités par placebo et dacarbazine ( $p = 0,002$ )<sup>78</sup>.

Toutes ces données suggèrent que l'ipilimumab permet des réponses durables et un bénéfice notable en termes de survie chez un nombre réduit de patients.

### 2.3.2 Long délai d'action

Du fait de son mécanisme d'action immunomodulateur, les profils de réponse à l'ipilimumab diffèrent de ceux observés avec les thérapeutiques cytotoxiques conventionnelles dont l'action directement ciblée contre la cellule tumorale se traduit de manière linéaire sur le volume tumoral mesuré. Dans la plupart des cas, la réponse à l'ipilimumab s'observe après plusieurs semaines, parfois précédée d'une pseudo-progression de la maladie ou d'une période de stabilité<sup>79,80</sup>. Ce phénomène peut s'expliquer par le temps nécessaire au système immunitaire pour mettre en œuvre une réponse effective et pose le problème de l'intérêt de l'immunothérapie par ipilimumab chez les patients présentant une tumeur à forte cinétique de croissance.

### 2.3.3 Nouvelles modalités de réponse imposant de nouveaux critères d'évaluation radiologique de la réponse au traitement

L'évaluation radiologique de l'efficacité des thérapies ciblées a rapidement mis en évidence les limites des critères d'évaluation établis sur la base de l'utilisation des agents cytotoxiques conventionnels (World Health Organization-WHO et response evaluation criteria in solide tumors-RECIST 1.1<sup>81</sup>). En ce sens, de nouveaux critères de réponse ont été

proposés en 2009 sous la dénomination immune-related response criteria (irRC) d'après l'observation des réponses radiologiques de 487 patients issus d'une étude de phase II<sup>82</sup>.

Dans cette analyse, quatre profils de réponses favorables au traitement ont été définis. (Figure 9). Les deux premiers similaires à ceux observés avec les thérapies cytotoxiques conventionnelles à savoir :

- A. la diminution du volume des lésions cibles sans apparition de nouvelles lésions
  
- B. une stabilisation durable de la maladie (parfois suivie d'une diminution lente du volume tumoral).

Deux patterns de réponse additionnels ont été observés :

- C. Une augmentation initiale de la masse tumorale suivie de la disparition complète de la tumeur. Ce phénomène s'expliquant par l'infiltration, secondaire au traitement, du microenvironnement tumoral et des métastases, par les lymphocytes T. Infiltration se traduisant, à l'imagerie, par une augmentation artéfactuelle du volume tumoral comme l'a démontré l'analyse histologique de biopsies tumorales<sup>83,84</sup>. Le scanner ne permettant pas de discerner l'inflammation de la maladie tumorale.
  
- D. Caractérisé par une diminution du volume tumoral de façon concomitante à l'apparition de nouvelles lésions qui régresseront par la suite. Ces nouvelles lésions sont considérées comme étant des micrométastases, initialement infra-radiologiques et révélées par l'infiltration lymphocytaire. La régression secondaire s'explique par le temps nécessaire au système immunitaire pour monter une réponse antitumorale effective.

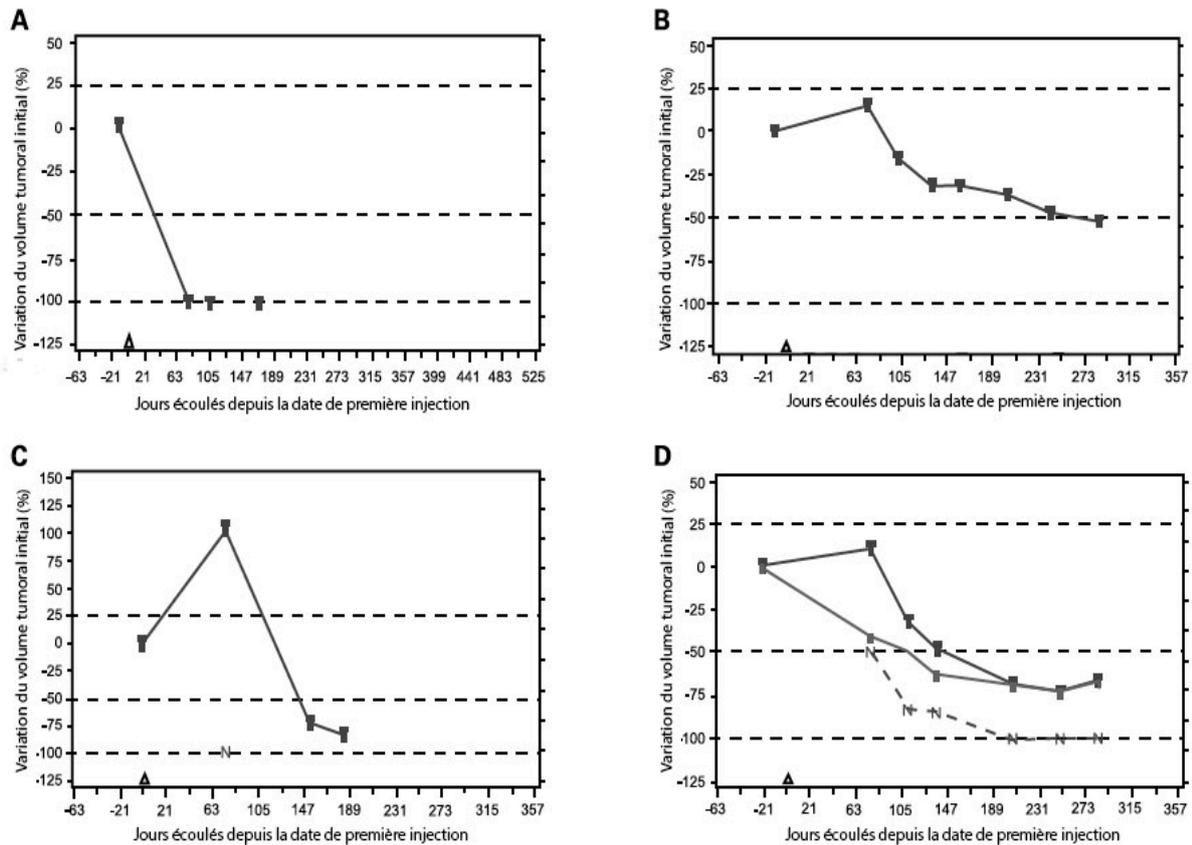


Figure 9 : Pattern de réponse aux anti-CTLA-4 : A, Regression des lésions initiales ; B, maladie stable suivie d'une décroissance lente du volume tumorale ; C, Réponse après une augmentation initiale du volume tumoral ; D, réduction de la masse tumorale après apparition de nouvelles lésions (N). Ligne du haut : masse tumorale totale, ligne intermédiaire : masse tumorale des lésions initiales, ligne du bas : masse tumorale des nouvelles lésions.

*Adapté de Wolchok et al ; Guidelines for the Evaluation of Immune Therapy Activity in Solid Tumors: Immune-Related Response Criteria. Clin Cancer Res 2009*

## 2.3.4 Toxicité

### 2.3.4.1 Concept d'effets indésirables d'ordre immunologiques (irAES)

L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CTLA-4 est responsable d'une prolifération massive des lymphocytes T et de leur activation dans de multiples organes<sup>65</sup>. Cette activation excessive du système immunitaire est à l'origine d'effets indésirables d'ordre immunologiques (immune related Adverse Events - irAEs) rapidement observés dans les études de phases I à III chez 60 à 80 % des patients<sup>70,85</sup>.

### 2.3.4.2 Incidences des irAES et sévérité

Les irAES concernent à divers degrés la quasi-totalité de l'organisme. Les effets indésirables dermatologiques à type de prurit et éruption maculo-papuleuse diffuse sont les plus fréquemment rapportés avec l'ipilimumab et concernent 50 % des patients. Les éruptions sont souvent modérées et apparaissent après la première ou deuxième injection. De rares cas de rash sévères à type de syndrome de Stevens-Johnson ou nécrolyse épidermique toxique sont rapportés chez moins de 1 % des patients.

Dans l'étude de Hodi et al<sup>70</sup>, l'incidence des irAES était de 60 %. Les effets indésirables de grade 3 et 4 (annexe 1) étaient rapportés chez 10 à 15 % des patients traités par ipilimumab contre 3 % dans le groupe recevant uniquement gp100. Parmi les 14 décès imputables à la molécule (2.1 %) seuls 7 étaient en lien avec l'auto-immunité. La peau et le tractus gastro-intestinal étaient les plus organes les plus fréquemment touchés. La diarrhée était notée chez 27 à 31 % des patients, le prurit, les rashes et le vitiligo chez 43.5 % des patients. Mc Dermott et al<sup>86</sup> ont étudié le devenir des patients (n = 78) dont la survie a été d'au moins deux ans : 6 patients présentèrent des effets indésirables survenant plus de 70 jours après la dernière injection d'ipilimumab. A l'exception d'un patient présentant une colite de grade III tous les effets indésirables étaient de bas grade.

Dans l'étude de Robert et al<sup>71</sup>, des effets de grade 3 ou 4 étaient notés chez 56.3 % des patients recevant de l'ipilimumab et de la dacarbazine contre 27.5 % des patients recevant uniquement de la dacarbazine. A noter que cette étude ne rapportait aucun décès lié au traitement chez les patients traités par ipilimumab.

Dans une revue systématique de la littérature publiée en 2015, Bertrand et al. ont cherché à mieux caractériser l'incidence et la nature des irAES survenant chez les patients recevant un traitement par anti-CTLA-4 (ipilimumab et tremelimumab). 1265 patients issus de 22 essais cliniques ont été inclus. L'incidence globale des effets indésirables d'ordre immunologique était de 72 %. Par ailleurs, la survenue d'effet indésirable était corrélée à la posologie avec une incidence de l'ensemble des irAES de 61 % pour l'ipilimumab 3 mg/kg versus 79 % pour ipilimumab 10 mg/kg. Le délai moyen de survenue des effets indésirables était d'environ 10 semaines mais très variable selon l'organe affecté.

### 2.3.4.3 Traitements des irAES

Les thérapeutiques recommandées pour le traitement de ces effets indésirables immunitaires sont les corticostéroïdes, plus rarement les anti-TNF-alpha (utilisés dans les colites) ou encore le mycophenolate mofetil (pour les hépatites). A noter que l'utilisation de corticostéroïdes ne semble pas interférer avec l'efficacité du traitement à long terme<sup>87</sup>. Pour les patients qui développent des endocrinopathies, l'atteinte est très souvent irréversible, impliquant une supplémentation hormonale à long terme.

L'impact d'un antécédent personnel ou familial d'auto-immunité sur la survenue de ces effets indésirables est sujet à controverses<sup>88,89</sup>.

### 2.3.5 Coûts

Pour l'ipilimumab le coût d'un flacon de 10 ml soit 50 mg de produit est de 3500 euros. Ainsi, pour un adulte de 80 kg, le coût d'une perfusion à la posologie de 3 mg/kg/j. est estimé à 16 800 euros et le coût du traitement complet (4 injections) à 67 200 euros. A l'heure où la question du prix des médicaments est au cœur des préoccupations gouvernementales, la prise en compte du coût thérapeutique est devenu un facteur décisionnel dans la stratégie thérapeutique.

## 2.4 Intérêt de la sélection des patients potentiellement répondeurs

L'identification de facteurs prédictifs de réponses aux anticorps monoclonaux est aujourd'hui un enjeu majeur de la recherche en oncologie. Si l'immunothérapie a marqué un tournant dans le traitement du mélanome métastatique, la place précise des différentes molécules dans la stratégie thérapeutique reste encore à déterminer, alors que les inhibiteurs de checkpoint immunologique de seconde génération sont désormais accessibles en pratique<sup>90,91</sup>. L'intérêt est multiple :

- premièrement identifier les potentiels répondeurs afin de leur proposer la molécule la plus adaptée en première intention,
- deuxièmement, écarter les non répondeurs et leur épargner les effets indésirables parfois sévères de ces thérapeutiques.
- Enfin, le coût exponentiel des traitements du cancer et les politiques de santé publiques imposent une réflexion sur l'utilisation des traitements chez les patients le plus susceptibles d'en profiter.

## 2.5 Critères prédictifs de la réponse à l'ipilimumab

### 2.5.1 Cliniques

Les données préliminaires des grands essais cliniques ont suggéré un lien entre survie globale et effets indésirables immunologiques. Plusieurs études ont alors cherché à établir une corrélation entre la survenue d'effets indésirables auto-immuns et la réponse au traitement. Les données restent aujourd'hui discordantes. Certaines études suggèrent que la survenue d'effets indésirables serait associée à un bénéfice clinique<sup>92,93</sup> tandis que d'autres études ne mettent pas en évidence cette association<sup>85,94</sup>

Dans l'étude de Attia et al<sup>93</sup>, 5 patients sur les 14 (36 %) ayant développé des effets indésirables immunologiques de grade 3 ou 4 sont répondeurs contre 2 (5 %) sur les 42 patients ne rapportant aucun effet indésirable immunologique ( $p = 0,008$ ). Beck et al<sup>95</sup>, dans leur étude portant sur 189 patients traités par ipilimumab pour un mélanome ou un carcinome rénal rapporte un taux de réponse objective respectivement de 36 et 35 % chez les patients avec entérocolite contre 11 et 2 % dans le groupe ne développant pas d'entérocolite ( $p = 0,0065$ ).

La dépigmentation vitiligoïde est classiquement observée chez les patients porteurs d'un mélanome et plusieurs études ont constaté cette réaction puisse être associée à un meilleur pronostic. Teulings et al<sup>96</sup> ont réalisé une méta-analyse sur l'impact du vitiligo sur la survie de patient de stade III, IV traités par immunothérapie. 137 études ont été incluses pour un total de 5737 patients. Dans 27 études, l'apparition d'un vitiligo était associée de façon statistiquement significative à une meilleure survie globale (HR = 0,51 ; 95% IC[0,32 – 0,82];  $P < 0.005$ ) et sans progression (HR = 0,25; 95% IC[0,10 ; 0,6]  $P < 0.003$ ) suggérant un bénéfice de l'immunothérapie chez ces patients.

## 2.5.2 Anatomopathologiques

Avant la découverte du marqueur des lymphocytes T régulateur, Foxp3, de nombreuses études ont observé que la présence d'un infiltrat lymphocytaire tumoral (TIL) chez les patients porteurs d'un mélanome était corrélée à un pronostic favorable<sup>12,97,98</sup>. Par la suite des équipes ont démontré, sur d'autres types de cancer, que ce n'était pas seulement la quantité de lymphocytes mais surtout la nature de l'infiltrat (taux de lymphocytes CD8+ ou ratio CD8+/CD4+) qui était corrélé à une réponse favorable<sup>99-101</sup>. De nombreuses équipes se sont par la suite intéressées à la modulation, par les anti-CTLA-4, de l'infiltrat lymphocytaire tumoral et ont tenté d'établir un lien entre les modifications observées et la réponse au traitement. Du fait des limitations pratiques à obtenir des biopsies tumorales pré et post-traitement la plupart de ces résultats sont obtenus à partir de petites séries rendant leur validité externe discutable.

### 2.5.2.1 Lymphocytes T CD8+ et T régulateurs

Afin d'étudier les mécanismes immunologiques sous-tendant l'activité antitumorale des anti-CTLA-4, Hodi et al<sup>83</sup> ont étudié les biopsies de métastases de mélanome de 6 patients obtenues après traitement par ipilimumab. Leurs analyses ont révélé que le taux de nécrose tumorale était corrélé à la nature de l'infiltrat lymphocytaire. Les échantillons dont les taux étaient significativement élevés présentaient un dense infiltrat de cellules T CD8+. De plus, le degré de destruction cellulaire tumorale était inversement proportionnel au nombre de lymphocytes T régulateurs ( $p < 0,0001$ ) mais seulement faiblement proportionnel à l'intensité des cellules T CD8+ ( $p = 0,054$ ). Cependant, il existait une relation linéaire entre l'extension

de la nécrose tumorale et le ratio lymphocytes T CD8+ sur lymphocyte T régulateur FoxP3+ ( $p < 0,0001$ ).

Ribas et al<sup>102</sup> ont également objectivé la présence d'un dense infiltrat péri-tumoral de lymphocytes CD8+ chez 7 patients en réponse objective après anti-CTLA-4 (tremelimumab). Cependant aucune biopsie n'a été réalisée chez des patients non répondeurs pour comparaison.

En revanche, Huang et al<sup>103</sup> ne mettent pas en évidence de corrélation entre le taux de T CD8+ intra-tumoraux et la réponse aux anti-CTLA-4. L'analyse des biopsies réalisées chez 19 patients avant et après traitement par tremelimumab objectivent une ascension majeure des lymphocytes T CD8+, moindre pour les CD4+ sans qu'il n'existe de différence significative entre les groupes répondeurs ( $n = 4$ ) et non répondeurs. Les caractéristiques fonctionnelles de ces infiltrats étaient par la suite étudiées via les marquages HLA-DR (marqueur d'activation lymphocytaire T), CD45RO (marqueurs de lymphocyte T mémoire), FoxP3. Il n'existait pas non plus de différence significative dans l'expression de ces marqueurs entre les deux groupes.

#### *2.5.2.2 Taux d'indoléamine 2,3 dioxygénase (IDO)*

Hamid et al<sup>104</sup> dans une étude de phase II se sont également intéressés à l'influence du microenvironnement tumoral sur la réponse au traitement par ipilimumab. Des biopsies tumorales étaient réalisées avant traitement et dans les 24 à 72 heures après la deuxième injection. Plusieurs biomarqueurs étaient utilisés (FoxP3, granzyme B, perforin, CD4, CD8, CD45RO et IDO). Les biopsies de 57 patients ayant reçu de l'ipilimumab 3 ou 10 mg/kg ont été analysées. Une association statistiquement significative est observée entre bénéfice clinique et un taux élevé de cellules FoxP3<sup>+</sup> et IDO<sup>+</sup> avant traitement. FoxP3 était détecté chez 75 % des patients dans le groupe des répondeurs contre 36 % dans le groupe des non répondeurs. IDO respectivement chez 37,5 et 11,1 % pour chacun des deux groupes. IDO est une enzyme régulatrice sécrétée par de nombreux tissus en situation inflammatoire et capable de moduler l'activation et le phénotype des cellules du système immunitaire<sup>105</sup> notamment les lymphocytes T régulateurs. L'expression de IDO dans le microenvironnement tumoral est un mécanisme d'échappement tumoral via l'induction d'une immunosuppression locale<sup>21,106</sup>. Plusieurs études ont démontré qu'une forte augmentation de son taux était un facteur de mauvais pronostic et a été mise en évidence dans de nombreux cancers dont le mélanome<sup>107</sup>. En ce sens. Les auteurs suggèrent qu'un taux élevé d'IDO dans le microenvironnement tumoral témoigne de l'existence d'une forte réponse immunitaire préexistante permettant de potentialiser l'efficacité des anti-CTLA-4 et expliquant l'association bénéfique mise en évidence.

### 2.5.2.3 Augmentation du nombre de macrophages dans l'environnement tumoral

Les recherches de Simpson et al<sup>69</sup> ont montré que l'action des anti-CTLA-4 se traduisait, au niveau du microenvironnement tumoral, par une augmentation des T effecteurs et une réduction sélective des T régulateurs et que cette réduction sélective était secondaire à un mécanisme de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) en lien avec l'expression d'un récepteur Fc $\gamma$  sur les macrophages M1 du microenvironnement tumoral. Un microenvironnement tumoral riche en macrophages M1 ou un nombre de macrophages M1 dont l'expression du récepteur Fc $\gamma$ RIV serait augmentée pourraient être des facteurs de réponse favorable à l'ipilimumab.

## 2.5.3 Moléculaires

### 2.5.3.1 Augmentation de l'expression de la molécule co-stimulatrice ICOS

L'ICOS (Inductible COStimulator) est une molécule co-stimulatrice inductible apparentée au CD28 exprimée préférentiellement par les cellules T et B ainsi que quelques CPAg. Elle fournit une co-stimulation positive lors de l'activation d'un lymphocyte T en se liant à ICOS-ligand, une autre molécule de la famille B7 exprimée à la surface des CPA activées<sup>108</sup>. ICOS et son ligand jouent un rôle critique dans la collaboration lymphocytes B et T, la formation des centre germinatif, la commutation isotypique des immunoglobulines ainsi que la médiation de l'auto-immunité et la prolifération des lymphocytes T régulateurs<sup>109</sup>. Certaines cellules mélanocytaires issues des patients atteints d'un mélanome de stade IV exprimeraient ICOS-ligand et seraient ainsi capables de stimuler la prolifération des lymphocytes T régulateurs<sup>110</sup>.

L'étude de modèles murins a permis de mettre en évidence que l'expression de ICOS était nécessaire à l'efficacité optimale des anti-CTLA-4 en démontrant que les souris chez qui son expression était altérée répondaient moins bien aux traitements que leurs homologues sauvages<sup>111</sup>. De plus, plusieurs études ont montré que son expression par les lymphocytes T CD4+ (sanguins et du microenvironnement tumoral) était augmentée après traitement par anti-CTLA-4<sup>112-114</sup>.

Dans une petite série de 14 patients porteurs d'un mélanome métastatique traités par ipilimumab (10 mg/kg) Carthon et al ont observé une corrélation entre une augmentation prolongée jusqu'à la 12<sup>ème</sup> semaine du taux de lymphocytes T CD4<sup>+</sup>ICOS<sup>hi</sup> et un bénéfice clinique à la semaine 24. 7 des 8 patients dont l'expression de ICOS était augmentée à la semaine 7 ou 12 de l'initiation du traitement par rapport aux taux mesurés avant initiation du traitement ont obtenu un bénéfice clinique à 6 mois contre aucun des 6 patients sans augmentation persistante de l'expression de ICOS<sup>115</sup>.

### 2.5.3.2 Expression de l'antigène tumoral NY-ESO-1

NY-ESO-1 est un antigène tumoral exprimé par de multiples tumeurs dont le mélanome (30-40 % des mélanomes de stade III et IV). Cet antigène est hautement immunogène et à l'origine de réponses cellulaires et humorales chez les patients atteints de cancers. Yuan et al<sup>116</sup>, dans une étude à faibles effectifs de 15 patients, ont observé que 5 patients sur les 8 ayant un bénéfice clinique évident du traitement étaient porteurs d'une tumeur NY-ESO-1<sup>pos</sup> contre aucun des 7 patients non répondeurs suggérant que l'expression de NY-ESO-1 puisse être corrélée à la réponse clinique. Les auteurs ont conforté cette observation dans une étude rétrospective de plus grande ampleur (144 patients) confirmant que les patients NY-ESO<sup>pos</sup> étaient plus susceptibles d'être en rémission complète, partielle ou en maladie stable après traitement par ipilimumab en comparaison avec ceux NY-ESO<sup>neg</sup><sup>117</sup>.

## 2.5.4 Biologiques

### 2.5.4.1 Faible taux de cellules myéloïdes suppressives sanguines

L'un des mécanismes majeurs du processus d'échappement des cellules tumorales au système immunitaire est l'établissement d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur via l'accumulation de cellules myéloïdes suppressives (MDSC)<sup>23</sup>. Ces cellules d'origine myéloïdes possèdent des propriétés immunosuppressives via l'inhibition des réponses des cellules T et la régulation de la production de cytokines par les macrophages<sup>118</sup>. Elles s'accumulent lors de la réponse immunitaire à une infection<sup>23,119</sup>, en cas de stress<sup>120</sup> et joue un rôle majeur dans l'altération de la réponse immunitaire chez les patients atteints de tumeurs<sup>23,121</sup>. Elles constituent une fraction importante du stroma tumoral et leur taux serait corrélé à la survie globale chez les patients atteints d'un mélanome de stade IV<sup>122</sup>. Martens et al, ont montré qu'un taux faible de MDSC avant traitement par ipilimumab était associé de façon statistiquement significative à une augmentation de la survie globale<sup>123</sup>. Kitano et al ont développé une méthodologie objective afin de mesurer la quantité de MDSC dans le sang périphérique de patients porteurs d'un mélanome métastatique traités par ipilimumab. L'application de cette méthodologie à leur cohorte de 82 patients a révélé qu'un taux de MDSC, avant traitement par ipilimumab et à la semaine 6, supérieur à celui des sujets sains du groupe contrôle était associé de façon significative à une diminution de la survie globale<sup>124</sup>.

### 2.5.4.2 Faible sécrétion de VEGF par les cellules tumorales

Le caractère immunosuppresseur du microenvironnement tumoral interfère avec l'activité antitumorale de l'immunothérapie, ce phénomène est amplifié par une vascularisation tumorale anormale. Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) est un facteur de croissance spécifique des cellules endothéliales qui régule

l'angiogénèse et augmente la prolifération et la migration des cellules tumorales mélanocytaires. Ce facteur est aussi connu pour inhiber la maturation des cellules dendritiques et les réponses des lymphocytes T. Yuan et al, dans une étude publiée en 2014 ont démontré que le taux de VEGF avant traitement par ipilimumab était corrélé à la réponse clinique et la survie globale chez les patients porteurs d'un mélanome métastatique. Les patients avec un taux de VEGF supérieur à 43 pg/ml étaient moins susceptibles de répondre favorablement au traitement. Il n'y avait cependant pas de corrélation entre le taux de VEGF à 12 semaines après traitement et la survie globale<sup>125</sup>. Cette découverte a conduit à la réalisation d'une étude de phase I<sup>126</sup> combinant ipilimumab et bevacizumab (un inhibiteur du VEGF). L'étude rapportait une survie médiane de 25.1 mois qui semble supérieure à ce qui a été observé dans les études de phase III évaluant l'ipilimumab en monothérapie, mais n'a pas fait l'objet d'une confrontation directe dans une étude randomisée.

#### *2.5.4.3 Taux de lymphocytes circulant et ratio neutrophiles sur leucocytes*

Plusieurs études ont mis en évidence une augmentation du taux de lymphocytes circulants après traitement par anti-CTLA-4<sup>127</sup>. Dans l'étude rétrospective d'une cohorte de 51 patients, Ku et al observent qu'un taux de lymphocytes > 1000/ $\mu$ L semble corrélé à un bénéfice clinique à la 24<sup>ème</sup> semaine (P = 0,07) et une amélioration de la survie globale. (Survie globale à 6 mois de 76 % contre 43 % dans le groupe avec un taux de lymphocyte < 1000/ $\mu$ L avec p = 0,06). Cette association apparaît statistiquement significative à la 7<sup>ème</sup> semaine de traitement (après 2 injections) avec une survie globale médiane de 11,9 mois versus 1,4 (p < 0,001)<sup>128</sup>. D'autres études viennent supporter ces résultats<sup>129-131</sup>.

Ferrucci et al<sup>132</sup> se sont intéressés à la valeur pronostique du nombre absolu de neutrophiles et du ratio neutrophiles sur leucocytes mesurés avant initiation du traitement. Dans une étude rétrospective de 720 patients, ces deux paramètres étaient associés de façon significative et indépendante avec la survie globale et la survie sans progression chez les patients atteints d'un mélanome métastatique traités par ipilimumab. Les patients présentant un taux de neutrophiles supérieur ou égal à 7500 associé à un ratio neutrophiles sur leucocytes supérieur ou égal à 3 avaient un risque de décès et de progression respectivement 5,7 et 4 fois plus élevés. Leurs taux de survie à 1 et 2 ans étaient respectivement de 2 et 0 % contre 43 et 24 % pour les patients dont les valeurs étaient inférieures. Une des limitations de l'étude reste néanmoins l'absence de données disponibles concernant les comorbidités et prises médicamenteuses des patients ne permettant pas d'exclure des facteurs confondant influençant les taux de leucocytes.

#### *2.5.4.4 Lactate deshydrogénase (LDH)*

Plusieurs études suggèrent que le taux de LDH et de neutrophiles sont deux facteurs pronostics indépendants de réponse au traitement par ipilimumab.

Le taux de LDH est un marqueur biologique pronostique authentifié et utilisé dans la classification de l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) pour le mélanome de stade IV<sup>133</sup>. En ce sens Kelderman et al<sup>97</sup> publient les résultats de deux cohortes réunissant 230 patients traités par ipilimumab. Les auteurs observent qu'un taux de LDH supérieur à deux fois la normale avant initiation du traitement est un facteur de risque indépendant de mauvais pronostic. Les auteurs suggèrent que le taux élevé de ce biomarqueur puisse s'expliquer par une forte charge tumorale et un turn-over cellulaire important. En effet les tumeurs à croissance rapide sont généralement peu vascularisées et la glycolyse anaérobie représente une source d'énergie conséquente se reflétant par le taux circulant de LDH impliquée dans la conversion du pyruvate en lactate<sup>135,136</sup>. L'accumulation de lactate étant responsable d'une diminution du pH extracellulaire affectant le bon fonctionnement des lymphocytes présents dans le microenvironnement tumoral<sup>137,138</sup>. De façon intéressante dans les deux essais de phase III ayant conduit à l'autorisation de mise sur le marché de l'ipilimumab un taux normal de LDH était également associé à une augmentation de la survie globale<sup>70,71</sup>. Si l'équipe de Kelderman conclut que la mesure du taux de LDH avant traitement puisse être utilisée comme critère de sélection des patients les plus à même de bénéficier de l'ipilimumab il semble que cette observation puisse s'étendre à l'ensemble des stratégies d'immunothérapie actuelles. En effet, le taux de LDH étant corrélé à l'agressivité tumorale. L'immunothérapie, du fait de sa faible cinétique de réponse, semble donc une option thérapeutique peu adaptée chez ces patients.

Dans l'étude de Valpione et al des taux élevés (supérieurs à 2 fois la normale pour les LDH et supérieurs à 7,5 G/l pour les neutrophiles) avant initiation du traitement par ipilimumab sont associés à un mauvais pronostic et une survie globale inférieure à 24 mois<sup>139</sup>. L'une des hypothèses, avancée par les auteurs, pouvant expliquer le lien entre le taux de neutrophiles et la réponse à l'immunothérapie est que le microenvironnement tumoral puisse être influencé par les neutrophiles via la sécrétions de cytokines<sup>140,141</sup>.

#### *2.5.4.5 Limitations*

La validité de ces biomarqueurs reste à déterminer car leur pertinence n'a pu être évaluée dans des études prospectives randomisées de grande envergure.

Une autre limitation à l'incorporation de ces paramètres dans la stratégie thérapeutique est que la plupart sont mesurés durant le traitement par ipilimumab et ne peuvent donc être utilisés au préalable pour sélectionner les potentiels répondeurs.

De plus, l'absence de groupe contrôle non traité par ipilimumab dans les études ne permet pas de définir si ces paramètres biologiques sont des marqueurs pronostiques ou prédictifs de la réponse au traitement. La plupart de ces marqueurs sont associés à un mauvais pronostic indépendamment du traitement utilisé, il semble donc que leur pertinence pronostique excède leur valeur prédictive. A la fois les marqueurs pronostics et prédictifs sont utiles pour orienter la décision thérapeutique. Un marqueur pronostique indique l'issue à long terme pour les patients qu'ils soient traités ou non et peut être utilisés pour identifier les patients ayant une espérance de vie suffisante pour bénéficier d'un traitement par ipilimumab

ayant un long délai d'action. Un marqueur prédictif permet d'identifier les patients les plus à même à bénéficier du traitement<sup>142</sup>. Koguchi et al<sup>143</sup> dans une étude publiée fin 2015 et réalisée chez les patients de l'étude de phase III de Hodi et al<sup>70</sup> comparent les résultats des patients traités par ipilimumab (n = 124) à ceux traités par gp100 (n = 123). Leurs analyses montrent qu'un taux de CXCL11 supérieur à 10 fois la normale et une augmentation du taux de sMICA (soluble MHC class I polypeptide-related sequence A) avant traitement par ipilimumab sont associés à une diminution de la survie dans le groupe ipilimumab mais pas dans le groupe gp100. Les auteurs marqueurs évalués (sMICB, LDH, sCD25, VEGF et le taux de lymphocytes avant traitement) sont augmentés dans les deux groupes. Ces analyses suggèrent que CXCL11 et sMICA sont des facteurs prédictifs potentiels de la réponse au traitement. En analyses multivariées sur une autre cohorte de patient traités par ipilimumab (n = 48) seul CXCL11 reste significativement associé à la survie globale (p = 0,029).

## 2.5.5 Radiologiques

La morphométrie est l'étude de la forme d'une structure, biologique ou non. Cette discipline permet notamment d'évaluer le risque pré-opératoire ou encore de prédire la toxicité ou la réponse à une thérapie systémique<sup>144,145</sup>. L'équipe du Dr Sabel a publié une étude suggérant une association statistiquement significative entre différentes données morphométriques mesurées par tomодensitométrie et la réponse au traitement chez des patients traités par ipilimumab pour un mélanome métastatique<sup>146</sup>.

## 2.5.6 Génétiques

La charge mutationnelle d'un cancer est associée à son immunogénicité, c'est à dire sa capacité à générer une reconnaissance spécifique par le système immunitaire<sup>147</sup>. Il a notamment été montré que le mélanome et les cancers du poumon non à petites cellules sont parmi les tumeurs les plus immunogènes du fait de de néo-antigènes tumoraux liés aux mutations. Allen et al<sup>148</sup> ont étudié les exomes de biopsies tumorales de mélanome avant traitement et ont mis en évidence que la charge globale mutationnelle et la charge en néoantigènes étaient significativement associées à un bénéfice clinique. A noter que leur étude n'a pas permis d'identifier de séquences récurrentes comme marqueur pronostic de la réponse au traitement. D'autres études ont mis en évidence des résultats similaires<sup>149,150</sup>. Ces études démontrent qu'il existe un fort rationnel à intégrer les analyses de l'instabilité mutationnelle microsatellite de la tumeur dans la discussion thérapeutique.

# Partie 2 : Etude du profil métastatique ganglionnaire comme facteur pronostique de réponse à l'ipilimumab

---

## 1 Rationnels de l'étude et objectifs

- 1- Aucun outil n'a actuellement montré sa capacité à identifier formellement une population pour laquelle un traitement par ipilimumab a une probabilité accrue d'induire un contrôle de la maladie.
- 2- Les rapports bénéfice / risque et coût / efficacité des stratégies de traitement par immunothérapie imposent une optimisation des choix de traitement et un accroissement du taux de réponse objective dans la population traitée. L'identification d'une population dite « enrichie » est nécessaire.
- 3- Les données concernant le rôle physiologique du CTLA-4 suggèrent que son rôle est préférentiellement observé dans le compartiment lymphatique de l'immunité antitumorale au moment du priming lymphocytaire, alors que l'activité du couple PD-L1 / PD-1 semble préférentielle dans le tissu tumoral. Les répondeurs à ces deux classes thérapeutiques semblent être des populations distinctes qu'il est pertinent d'identifier avant l'instauration du traitement de première ligne.
- 4- L'hypothèse scientifique guidant notre étude est que l'identification radiologique d'une masse tumorale ganglionnaire active au moment de l'instauration du traitement puisse être le reflet d'une situation immuno-oncologique favorisant l'efficacité thérapeutique de l'ipilimumab contre le mélanome.

### 1.1 Objectif principal

Comparer le taux de contrôle de la maladie (réponse complète ou partielle ou maladie stable) induit par le traitement par ipilimumab selon le profil métastatique ganglionnaire (métastases ganglionnaires actives versus absence de métastase ganglionnaire active) au moment de l'instauration du traitement) chez des patients atteints d'un mélanome métastatique et/ou inopérable. L'objectif principal étant de définir si le patron métastatique observé en imagerie, et notamment l'atteinte ganglionnaire, est un critère permettant de sélectionner les patients potentiellement répondeurs à l'ipilimumab au moment de la première évaluation post-thérapeutique.

## 1.2 Objectif secondaire

Identifier d'autres marqueurs potentiels prédictifs de la réponse au traitement par ipilimumab notamment l'historique thérapeutique ou le patron métastatique global.

## 2 Matériel et méthodes

### 2.1 Design

Nous avons conduit une étude rétrospective monocentrique cas-témoin réalisée à l'Institut Universitaire du Cancer de Toulouse (IUCT) incluant tous les patients ayant reçu de l'ipilimumab pour le traitement d'un mélanome entre octobre 2010 et novembre 2014.

### 2.2 Population clinique étudiée

La population cible était constituée de patients de plus de 18 ans ayant reçu au moins une perfusion d'ipilimumab à la posologie de 3 ou 10 mg/kg. Le diagnostic de mélanome devait être confirmé histologiquement et l'état métastatique confirmé radiologiquement et/ou histologiquement. Tous les patients devaient avoir bénéficié d'un examen tomodensitométrique thoraco-abdomino-pelvien (TAP) ou d'une tomographie par émission de positrons (TEP) réalisés moins de 30 jours avant la première perfusion d'ipilimumab et dans un délai compris entre 12 et 18 semaines après la première injection d'ipilimumab. L'examen devait être disponible sur le serveur d'imagerie médicale du CHU / IUC pour relecture.

La liste des patients (n = 72) ayant reçu de l'ipilimumab entre octobre 2010 et novembre 2014 a été récupérée auprès de l'Unité de Pharmacie Clinique Oncologique (UPCO) du CHU de Toulouse / IUCT. Quatre patients ont été exclus car traités dans le cadre du protocole CA209-069 (étude de phase II randomisée en double-aveugle comparant Nivolumab en combinaison avec ipilimumab versus ipilimumab en monothérapie). De plus, 10 autres patients ont été exclus car les images du TDM réalisé avant la première injection n'étaient pas disponibles sur notre serveur pour relecture. L'évaluation finale a porté sur 58 patients. Le suivi a été réalisé jusqu'à mars 2016 permettant un suivi minimum de 16 mois.

## 2.3 Recueil des données

Le recueil était fait via les dossiers informatisés des patients disponibles sur l'un des deux logiciels utilisés au CHU de Toulouse : ORBIS (AGFA HealthCare, version 3.1.3.2 2015) et/ou MEDAR (AGFA HealthCare, version 5.3.9 SP 04). Un complément d'information pouvait être obtenu par les compte-rendus des réunions de concertations pluridisciplinaires (RCP) disponibles dans le dossier communiquant de cancérologie de chaque patient sur le site ONCOMIP. Les éléments recueillis sont détaillés en annexe 2.

### 2.3.1 Données démographiques et caractéristiques de la tumeur au diagnostic

Nous avons recueilli les données démographiques de la population étudiée. La tumeur au diagnostic était caractérisée par sa localisation, son type histologique. Le Breslow, la présence ou non d'une ulcération, l'index mitotique, l'existence de métastases ganglionnaires permettaient un calcul du pTNM au diagnostic du primitif selon la classification AJCC<sup>133</sup>. Ces données anatomopathologiques étaient recueillies le plus souvent via les compte-rendus anatomopathologiques lorsque ces derniers étaient disponibles sur notre serveur. Dans le cas où l'exérèse de la tumeur avait été réalisée en externe, ces informations étaient collectées par le biais des différents courriers de consultation du patient ou des fiches RCP.

### 2.3.2 Historique de la maladie cancéreuse

L'historique de la maladie tumorale (date de diagnostic, date de première métastase, stade à la première métastase) était caractérisé, de même que l'historique thérapeutique de celle-ci depuis son diagnostic jusqu'à l'initiation du traitement par ipilimumab (prescription d'interféron, type de première ligne).

### 2.3.3 Etat de la maladie à l'initiation du traitement par ipilimumab

Le descriptif morphologique de la maladie avancée au moment de l'initiation du traitement par ipilimumab était recueilli et notamment le nombre d'organes atteints à l'initiation du traitement ainsi que la présence ou non de métastase cérébrale. Les scanner TAP et cérébraux ou TEP scanner réalisés dans le mois précédant la première injection

d'ipilimumab ont été récupérés et relus par deux investigateurs indépendants entraînés aux critères RECIST<sup>81</sup> en aveugle des données d'évolution et de réponse thérapeutique du patient. Les modalités de cette relecture sont détaillées dans le paragraphe 2.4.

### 2.3.4 Déroulement du traitement par ipilimumab

Les dates et nombres d'injection reçues (sur les 4 initialement prévues) étaient extraites du logiciel de délivrance des chimiothérapies de la pharmacie hospitalière du CHU de Toulouse (Chimioweb, computer engineering version 5.6.51014). Les effets indésirables étaient également collectés.

### 2.3.5 Evaluation du traitement par ipilimumab

Les données d'efficacité du traitement par ipilimumab étaient définies par la conclusion retenue par le clinicien en charge du traitement après évaluation tumorale selon les critères RECIST 1.1<sup>81</sup> en fin du premier cycle à 16 semaines de la première injection. La date de progression était précisée s'il y avait lieu.

### 2.3.6 Devenir des patients

Les données concernant les traitements réalisés après la première cure d'ipilimumab étaient collectés qu'ils soient systémiques (anti-PD1, inhibiteurs BRAF, nouvelle cure d'ipilimumab...) ou interventionnels (chirurgie, radiothérapie, membre perfusé...). La date de dernière nouvelle était précisée ainsi que l'état du patient à cette date (décédé ou en vie) et son statut (en rémission complète, partielle, stable, en progression). La cause du décès était précisée.

## 2.4 Analyse radiologique à l'inclusion

L'analyse des imageries réalisées avant initiation du traitement par ipilimumab a été faite selon une grille de lecture standardisée (Annexe 3) par deux radiologues différents.

Pour l'atteinte ganglionnaire, nous avons identifié les ganglions pathologiques et mesurables sus-diaphragmatiques et sous-diaphragmatiques.

- Un ganglion lymphatique était considéré comme pathologique et mesurable si son plus petit axe était supérieur ou égal à 15 mm (le plus petit axe étant l'axe perpendiculaire à la plus grande dimension du ganglion).
- La mesure du petit axe (en mm) des 3 plus grands ganglions sus-diaphragmatiques et des 3 plus grands ganglions sous-diaphragmatiques était recueillie.
- Lorsque le nombre de ganglions pathologiques mesurables sus ou sous-diaphragmatiques était inférieur à 3, la mesure du petit axe des lésions non cibles (dont la mesure du petit axe est comprise entre 10 et 15 mm) était recueillie.

Pour chaque organe extra-ganglionnaire (foie, poumon, os, tissus mou, crâne, sein, rate, péritoine, surrénale, pancréas) nous avons déterminé s'il existait des lésions métastatiques mesurables définies, d'après les critères RECIST 1.1<sup>81</sup>, comme devant présenter une dimension supérieure ou égale à 10 mm. Lorsque l'organe présentait des lésions cibles, la mesure (en mm) du plus grand axe des 2 plus grandes lésions cibles était recueillie (sauf pour le sein, la rate, le péritoine, surrénale, pancréas où seule la mesure de la plus importante lésion cible était recueillie).

## 2.5 Analyses statistiques

Les variables qualitatives sont décrites par le nombre de données manquantes, le nombre et le pourcentage de chaque modalité de la variable. Les données quantitatives sont décrites par la médiane, le minimum, le maximum et le nombre de données manquantes. Les comparaisons entre les groupes sont réalisées par le test du Chi-2 ou le test exact de Fisher pour les variables qualitatives et par le test de Mann-Whitney ou le test de Kruskal Wallis pour les variables quantitatives.

Concernant les données de survie, la date de référence est la date de début du traitement par Ipilimumab. La survie globale est définie par le délai entre la date de référence et la date de décès ou la date de dernières nouvelles (données censurées). La survie sans progression est définie par le délai entre la date de référence et la date de progression ou décès. Les patients en vie à la date de dernières nouvelles sont censurés à cette date. Les données de survie sont estimées à l'aide de la méthode de Kaplan-Meier et présentées avec leur intervalle de confiance à 95 %. Les analyses univariées sont réalisées à l'aide du test du log-rank pour les données qualitatives et du modèle à risques proportionnels de Cox pour les données quantitatives.

### 3 Résultats

#### 3.1 Population

Cinquante-huit patients ont été inclus (sex ratio H/F de 1,5). L'âge médian au diagnostic était de 63 ans (âge minimum de 24 ans et maximum de 83 ans).

#### 3.2 Caractéristiques de la tumeur au diagnostic (tableau 1)

Les mélanomes primitifs étaient principalement situés sur les membres inférieurs. Neuf patients (15,5 %) présentaient un mélanome métastatique de primitif inconnu. Le mélanome superficiel extensif était le type histologique le plus représenté (35,3 % des patients). Le breslow médian était de 3 mm (0,4 à 15 mm). Dix patients étaient classés en stade IIC au moment du diagnostic initial du mélanome.

| <b>Site du primitif (n = 58)</b>    | <b>N (%)</b> |
|-------------------------------------|--------------|
| Membre inférieur                    | 17 (29,3 %)  |
| Membre supérieur                    | 6 (10,3 %)   |
| Tronc                               | 13 (22,4 %)  |
| Tête et cou                         | 10 (17,2 %)  |
| Muqueuse                            | 3 (5,2 %)    |
| Sans primitif connu                 | 9 (15,5 %)   |
| <b>Type histologique (n = 51)</b>   | <b>N (%)</b> |
| Mélanome superficiel extensif (SSM) | 18 (35,3 %)  |
| Nodulaire                           | 7 (13,7 %)   |
| Muqueux                             | 2 (3,9 %)    |
| Cellules fusiformes                 | 2 (3,9 %)    |
| Dubreuilh                           | 1 (2 %)      |
| Acral Lentigineux                   | 4 (7,8 %)    |
| Autre                               | 2 (3,9 %)    |
| Inclassable                         | 6 (11,8 %)   |
| Sans primitif connu                 | 9 (17,6 %)   |
| <b>Breslow (mm) (n = 41)</b>        |              |
| Médian (min-max)                    | 3 (0,4 – 15) |

|  |              |
|--|--------------|
| <b>Index mitotique (n = 9)</b>           |              |
| Médian (min-max)                         | 3 (1 – 9)    |
| <b>Clark (n = 37)</b>                    |              |
|  | <b>N (%)</b> |
| I  | 1 (2,7 %)    |
| II                                       | 1 (2,7 %)    |
| III                                      | 13 (35,1 %)  |
| IV                                       | 16 (43,2 %)  |
| V  | 6 (16,2 %)   |
| <b>Ulcération (n = 38)</b>               |              |
|  | <b>N (%)</b> |
| Non                                      | 17 (44,7 %)  |
| Oui                                      | 21 (55,3 %)  |
| <b>Régression (n = 28)</b>               |              |
|  | <b>N (%)</b> |
| Non                                      | 21 (75 %)    |
| Oui                                      | 7 (25 %)     |
| <b>Stade AJCC au diagnostic (n = 40)</b> |              |
|  | <b>N(%)</b>  |
| IA – IIA                                 | 9 (22,5 %)   |
| IIB – IIC                                | 7 (17,5 %)   |
| IIIA                                     | 6 (15 %)     |
| IIIB                                     | 8 (20 %)     |
| IIIC-IV                                  | 10 (25 %)    |

Tableau 1 : principales caractéristiques de la tumeur au diagnostic

*Le total des pourcentages peut ne pas atteindre 100 en raison des erreurs liées à l'arrondissement*

### **3.3 Caractéristiques à la première métastase**

Le délai médian avant la première métastase était de 14 mois (0 à 203 mois). Au total 25 patients (43 %) étaient en stade IV, 22 patients (38 %) en stade IIIC et 5 patients (8 %) en stade IIIB. Six patients (10 %) étaient en stade III B ou C (pT inconnu du fait d'un primitif inconnu).

### **3.4 Historique thérapeutique**

Quinze patients (26 %) avaient reçu de l'interferon (IFN) en adjuvant et 37 patients (63,8 %) avaient reçu au moins un traitement systémique avant l'initiation de l'ipilimumab : pour 25/58 patients (43,1 %) la première ligne de traitement était le d'écicene et pour 10/58 patients (17,2 %) un inhibiteur BRAF.

### **3.5 Evaluation scannographique à l'initiation du traitement par ipilimumab (annexes 4 et 5)**

L'examen d'imagerie réalisé avant initiation du traitement par ipilimumab était un TDM TAP chez 46 patients et un TEP chez 12 patients.

Au total, 26 patients (45 %) présentaient une atteinte ganglionnaire et 22 patients (38 %) avaient au moins un ganglion sus-diaphragmatique (annexe 4).

Les sites métastatiques les plus fréquents étaient le poumon (39,7 % des patients), les tissus mous (35,1 %), le foie (26,3 %) et le péritoine (21,1 %). Dix patients (17,2 %) avaient des métastases cérébrales, parmi eux seul deux patients étaient répondeurs au traitement. Aucun des 5 patients porteurs d'une métastase surrenalienne n'était répondeur au traitement (annexe 5).

### **3.6 Traitement par ipilimumab**

L'ipilimumab était administré en 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> ligne ou plus respectivement chez 21 (36,2 %), 19 (32,8 %), 18 (31 %) patients. Au total, 37 patients (64 %) avaient reçu les 4 injections. Le nombre médian d'organe atteint au début du traitement par ipilimumab était de

2 (1 à 6) et 12 patients avaient une métastase unique. Dix patients étaient en stade III (B ou C), 48 patients en stade IV selon la classification AJCC.

Sur les 52 patients dont les données sur les effets indésirables étaient disponibles, la moitié ne présentait aucun effet indésirable. Les effets indésirables les fréquemment rapportés étaient les colites, l'hypophysite, l'asthénie et les hépatites (tableau 2). Parmi les autres effets indésirables rapportés il existait 2 cas de thyroïdites auto-immunes, une bronchiolite oblitérante avec organisation pneumonique (BOOP), un cas de PRES syndrome, un cas d'éruption maculo-papuleuse. Dix patients (17 %) ont présenté des effets indésirables de grade 3 ou 4. Il n'y avait pas de décès lié aux effets indésirables du traitement. Il n'y avait pas de corrélation significative entre la réponse au traitement et la survenue d'effet indésirable (données non présentées).

| <b>Effets indésirables</b>         | <b>(n = 26)</b> |
|------------------------------------|-----------------|
| <b>Colite (grade) (n = 16)</b>     |                 |
| 1                                  | 3 (11,5 %)      |
| 2                                  | 4 (15,4 %)      |
| 3                                  | 8 (30,8 %)      |
| 4                                  | 1 (3,8 %)       |
| <b>Hypophysite (grade) (n = 3)</b> |                 |
| 1                                  | 3 (11,5 %)      |
| <b>Asthénie (grade) (n = 2)</b>    |                 |
| 1                                  | 2 (7,7 %)       |
| <b>Hépatite (grade) (n = 2)</b>    |                 |
| 1                                  | 1 (3,8 %)       |
| 4                                  | 1 (3,8 %)       |

Tableau 2 : principaux effets indésirables sous ipilimumab

## 3.7 Réponses au traitement

A 16 semaines de la première injection, sur les 58 patients :

- 40 patients (69 %) étaient en progression
- 18 patients (31 %) étaient considérés comme répondeurs dont :
  - o 2 en réponse complète (3,4 %)
  - o 10 en réponse partielle (17,2 %)
  - o 6 (10,3 %) dont l'état était stable à l'évaluation scannographique.

## 3.8 Analyses de survie

Le suivi médian de la population était de 19,8 mois (95% IC[19,3 ; 26,4]).

### 3.8.1 Survie globale

La survie médiane de l'ensemble des patients était de 10,1 mois (95% IC[5,3 ; 18,7]). Les taux de survie globale de l'ensemble de la population étaient de 43,29% à 12 mois et 39,36 % à 18 mois (figure 10).

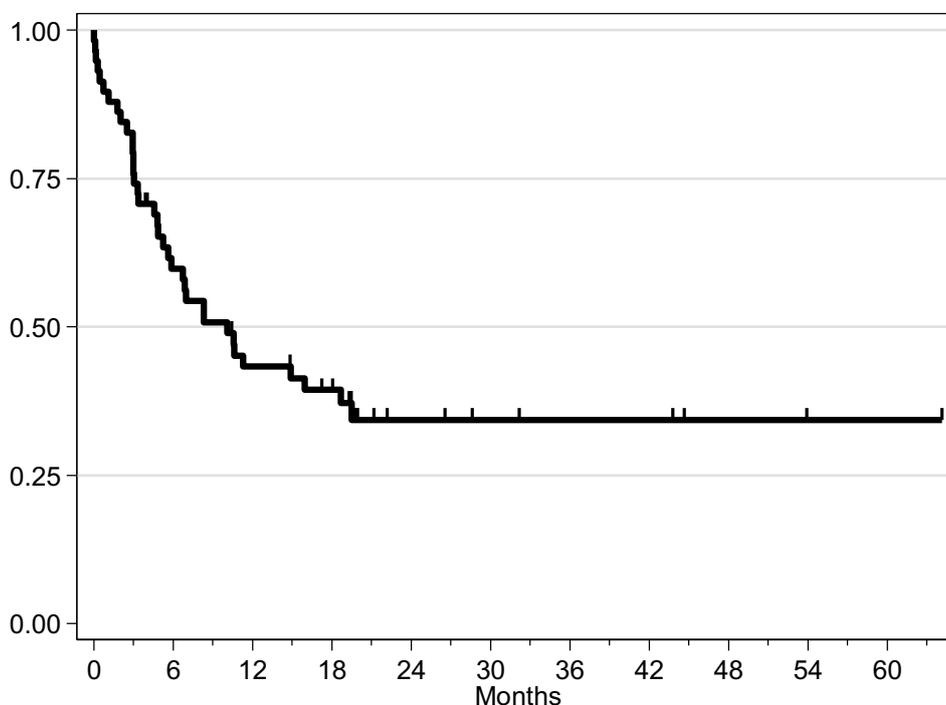


Figure 10 : Survie globale de l'ensemble de la population

### 3.8.2 Survie sans progression

Les taux de survie sans progression de l'ensemble de la population étaient de 67,24% à 3 mois et chutaient à 23,21 % à 6 mois (figure 11).

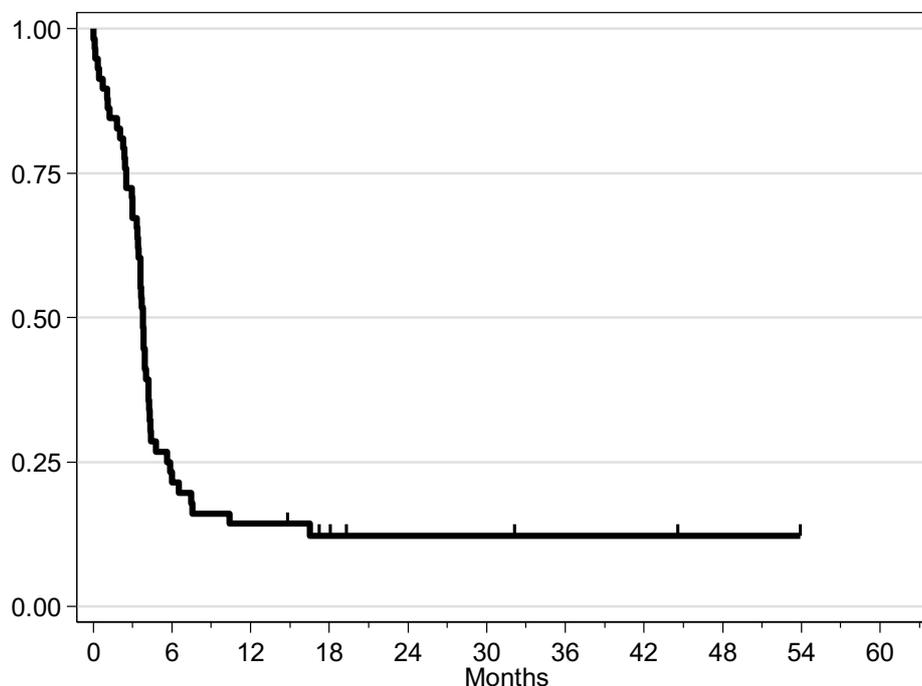


Figure 11 : survie sans progression de l'ensemble de la population

### 3.9 Devenir

Après l'ipilimumab, 24 patients (42,1 %) ont bénéficié d'un traitement. Pour 13 il s'agissait d'un inhibiteur du PD-1, pour 6 d'un inhibiteur BRAF, 3 patients ont bénéficié d'une nouvelle cure d'ipilimumab. Une exérèse chirurgicale complémentaire d'une ou des métastase(s) a été réalisée chez 6 patients.

A la date de dernière nouvelle (mars 2016) avec un suivi médian de 19,8 mois, 36 patients (62,1 %) étaient décédés. Parmi les 22 patients toujours en vie, 10 étaient en progression (tableau 3).

| n = 22            | n (%)     |
|-------------------|-----------|
| Progression       | 10 (46 %) |
| Stable            | 4 (18 %)  |
| Réponse partielle | 6 (27 %)  |
| Réponse complète  | 2 (9 %)   |

Tableau 3 : statut de la maladie des patients vivants aux dernières nouvelles

### 3.10 Influence des métastases ganglionnaires actives sur la réponse thérapeutique à l'ipilimumab (annexe 4)

Parmi les 26 patients (45 %) avec au moins une atteinte ganglionnaire, 9 étaient répondeurs (50 %) et 17 non répondeurs (42,5 %). En analyses univariées, il n'existait pas de différence significative entre les deux groupes en terme de réponse ( $p = 0,5952$ ). Au total, 22 patients (38 %) avaient au moins un ganglion sus-diaphragmatique dont 8 répondeurs et 14 non répondeurs (annexe 4).

Il n'existait pas non plus de différence significative en termes de survie globale (figure 12 et annexe 6) ou sans progression concernant l'atteinte ganglionnaire (données non présentées).

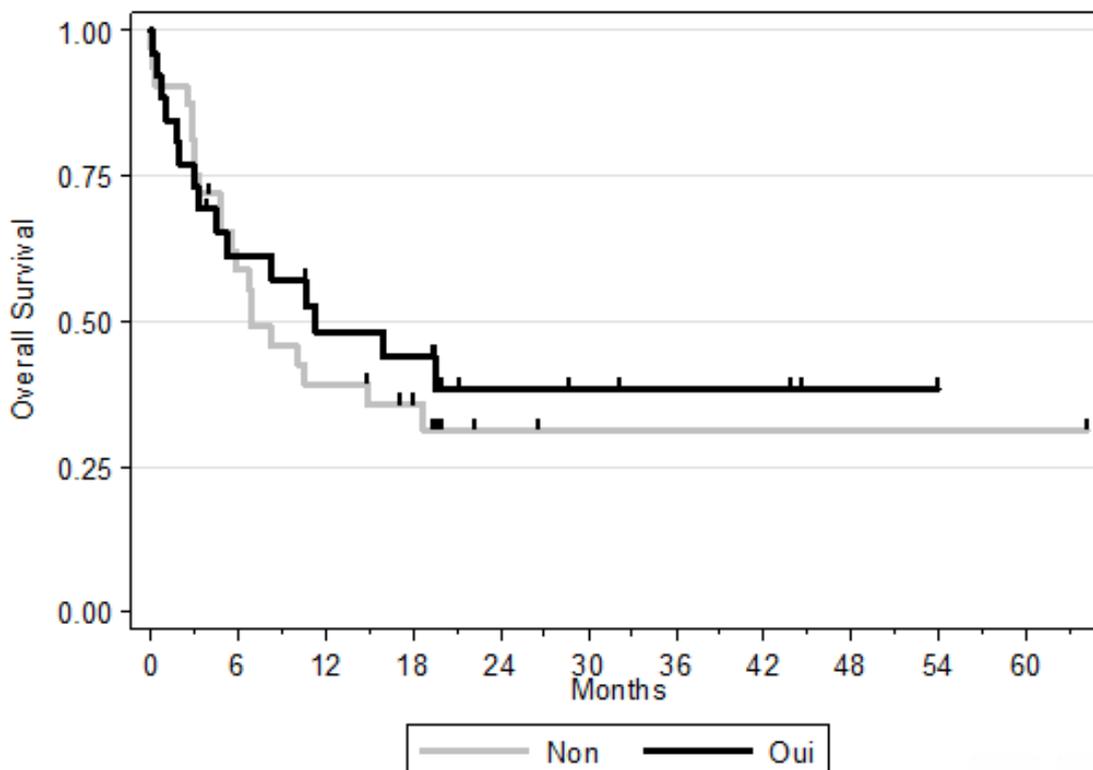


Figure 12 : Survie globale en fonction du statut ganglionnaire. 38,5 % des patients avec atteinte ganglionnaire étaient toujours en vie à 2 ans contre 33 % des patients sans atteinte ganglionnaire.

## 3.11 Facteurs associés à la réponse thérapeutique à l'ipilimumab

### 3.11.1 Interféron

La proportion de patients préalablement traités par interféron était significativement plus importante dans le groupe des répondeurs en comparaison avec le groupe des non-répondeurs (tableau 4).

|                   | Population globale | Non répondeur (n = 40) | Répondeur (n = 18) | P value |
|-------------------|--------------------|------------------------|--------------------|---------|
| <b>Interféron</b> |                    |                        |                    |         |
| Non               | 38 (71,7 %)        | 31 (81,6 %)            | 7 (46,7 %)         | 0,0179  |
| Oui               | 15 (28,3 %)        | 7 (18,4 %)             | 8 (53,3 %)         |         |
| Missing           | 5                  | 2                      | 3                  |         |

Tableau 4 : réponse au traitement en fonction de l'administration d'IFN

### 3.11.2 Nombre d'injections d'ipilimumab

Un nombre incomplet d'injections d'ipilimumab (1, 2 ou 3 / 4) était associé à une moins bonne réponse au traitement à 16S ( $p = 0,0076$ ) (tableau 5) et a une moins bonne survie à 6 mois (HR 0,41 ; 95% IC[0,28-0,59] ;  $p < 0,0001$ ).

|  | Population globale | Non répondeur (n = 40) | Répondeur (n = 18) | P value |
|--|--------------------|------------------------|--------------------|---------|
| <b>Nombre d'injection d'ipilimumab</b> |                    |                        |                    |         |
| 1/2/3                                  | 21 (36,2%)         | 19 (47,5%)             | 2 (11,1%)          | 0,0076  |
| 4                                      | 37 (63,8%)         | 21 (52,5%)             | 16 (88,9%)         |         |

Tableau 5 : réponse au traitement en fonction du nombre d'injections d'ipilimumab

### 3.11.3 Nombre d'organes atteints avant traitement

Le nombre d'organes atteints avait une influence sur la survie globale. Le risque instantané de décès était 1.48 fois plus important pour une augmentation d'une unité du nombre d'organe atteint. (HR 1,48 ; 95% IC[1,17-1,87] ; p = 0.001)

### 3.11.4 Influence du patron métastatique

L'existence de métastases pulmonaires et hépatiques étaient significativement associée à un risque de décès à 6 mois. Seuls 31,11 % des patients porteurs d'au moins une métastase hépatique étaient toujours en vie à 6 mois contre 71,14 % des patients indemnes de lésion (p = 0,0056). Concernant l'atteinte pulmonaire, 47,10 % des patients métastatiques étaient toujours en vie à 6 mois contre 68,15 % des patients indemnes de lésion (p = 0,006) (tableau 6).

|               | <b>Evt/N</b> | <b>Surv (t = 6)</b> | <b>IC95%</b>  | <b>P value</b> |
|---------------|--------------|---------------------|---------------|----------------|
| <b>Foie</b>   |              |                     |               |                |
| Non           | 23/42        | 71,14 %             | [54,79;82,47] | 0,0056         |
| Oui           | 12/15        | 31,11 %             | [10,20;55,03] |                |
| <b>Poumon</b> |              |                     |               |                |
| Non           | 16/35        | 68,15 %             | [49,87;80,95] | 0,0006         |
| Oui           | 20/23        | 47,10 %             | [25,97;65,68] |                |

Tableau 6 : survie globale à 6 mois selon statut métastatique hépatique ou pulmonaire.

## 4 Discussion

### 4.1 Impact du patron métastatique ganglionnaire sur la réponse thérapeutique à l'ipilimumab

Notre étude ne permet pas de confirmer notre hypothèse scientifique et ne met pas en évidence de réponse thérapeutique à l'ipilimumab statistiquement associée à un patron métastatique ganglionnaire. Nous observons cependant une tendance à une meilleure probabilité de réponse chez les patients présentant un patron métastatique ganglionnaire (9 patients répondeurs -50 %- présentaient des métastases ganglionnaires contre 17 patients -42,5 %- parmi les non répondeurs). Notre résultat semble possiblement lié à un manque de puissance statistique, du fait des effectifs restreints évalués dans un schéma rétrospectif (seulement 26 patients porteurs d'une métastase ganglionnaire). A notre connaissance, aucun élément bibliographique n'influence actuellement l'interprétation de nos résultats, cette hypothèse ne semble pas avoir été évaluée préalablement par d'autres équipes.

### 4.2 Caractéristiques générales de la cohorte

Nous rapportons un taux de réponse objective (définie par une maladie en rémission complète ou partielle) de 21 % à 16 semaines, ce qui est supérieur aux données rapportées dans les deux études de phase III où ce taux est de 11%<sup>70</sup> et 15,2 %<sup>71</sup>. Le taux de contrôle de la maladie (défini par une maladie stable ou en rémission partielle ou complète) estimé à 31 % est en revanche comparable.

Concernant la survie globale, la médiane était de 10,1 mois ce qui semble inférieur aux données rapportées dans les études de phase III (10<sup>70</sup> et 11,2 mois<sup>71</sup>). En contrepartie, le taux de survie à 2 ans était de 34,3 %. Ces taux de survie semblent supérieurs à ceux rapportés dans les études pivotales de l'ipilimumab (25,8<sup>70</sup> et 23,5 %<sup>71</sup>). Cette différence s'explique au moins partiellement par le fait que notre étude a été menée en conditions dites de « vie-réelle » avec des critères d'indication du traitement plus lâches qu'en situation de recherche clinique (traitement de patients en situation de maladie cérébrale active dans notre étude à l'inverse des études pivotales par exemple) et surtout un effet « cross-over » lié à la mise en œuvre de traitements de seconde puis 3<sup>ème</sup> ligne influençant potentiellement la survie des patients. Notre résultat souligne cependant la qualité de la réponse, lorsqu'elle est obtenue, par le traitement par ipilimumab, capable d'induire des réponses thérapeutiques de longue durée.

L'atteinte hépatique a déjà été rapportée comme un facteur de mauvais pronostic<sup>151</sup>. Dans notre étude, l'existence de métastases hépatiques était statistiquement associée à un risque majoré de progression ou décès sous ipilimumab. Ce résultat va à l'encontre des résultats d'analyses ancillaires menées sur des études de phase III présentées récemment au congrès de l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) 2016 par McArthur et al. Leurs données suggèrent un intérêt de l'association vemurafenib et cobimetinib (deux thérapies ciblées utilisées dans le traitement du mélanome métastatique muté BRAF), en mettant en évidence un gain thérapeutique plus marqué chez les patients porteurs de métastases hépatiques<sup>152</sup>.

De même l'atteinte métastatique pulmonaire était associée à un moins bon pronostic en terme de survie globale. Ce résultat est en contradiction avec la littérature puisque l'atteinte pulmonaire est de meilleur pronostic par rapport aux autres atteintes viscérales<sup>153</sup>. Cette différence peut s'expliquer par un possible facteur de confusion puisque 12 patients sur les 23 porteurs de métastases pulmonaires présentaient également des métastases hépatiques (données non présentées). De plus l'absence de données concernant le taux de LDH ne nous permet pas d'exclure que ces patients aient un taux de LDH élevé qui est un marqueur indépendant de mauvais pronostic.

Dans notre cohorte, la présence de métastases cérébrales n'était pas un facteur pronostic significatif contrairement à ce qui a pu être mis en évidence dans d'autres études<sup>154,155</sup> probablement du fait d'un faible effectif puisque 10 patients seulement étaient porteurs de métastase cérébrales.

La moitié de nos patients ont présenté des effets indésirables immunologiques. L'atteinte du tractus gastro-intestinal était la plus fréquente (27 %) comme cela a été mis en évidence dans les études de phase III. Deux patients ont présenté des effets indésirables de grade 4 selon la classification NCI CTCAE V4.0 (colite et hépatite) ayant imposés l'arrêt du traitement avant la 4ème injection. Aucun décès lié au traitement n'a été rapporté. Les effets immunologiques dermatologiques ont été peu rapportés alors qu'ils concernent généralement 50 % des patients. Cette différence peut s'expliquer par le caractère rétrospectif de notre étude et le fait que ces effets indésirables, la plupart du temps peu invalidant voir transitoires, sont souvent sous-rapportés dans les dossiers cliniques. Contrairement à ce qui a pu être rapporté dans les études antérieures, l'occurrence des effets indésirables immunologiques n'était pas corrélée à la survie globale.

La comparaison de nos patients avec celle des études d'efficacité antérieures reste néanmoins difficile du fait du manque de donnée concernant le statut OMS et la valeur des LDH chez nos patients dont on sait qu'ils sont deux facteurs pronostiques indépendants de survie<sup>133</sup>. Là encore les résultats de l'analyse ancillaire menée par McArthur et al sur les études de phase III de l'association vemurafenib et cobimetinib ont démontré un intérêt de cette association dans la population des patients ayant un taux de LDH supérieur à 2 fois la normale<sup>152</sup>.

## 4.3 Un rôle potentiel de l'interféron

Dans notre étude, La proportion de patients préalablement traités par interféron était significativement plus importante dans le groupe des répondeurs en comparaison avec le groupe des non-répondeurs. Parmi les 15 patients ayant reçu de l'interféron, seuls 7 ont développé des métastases ganglionnaires, il n'a donc pas été retrouvé de lien statistiquement significatif entre l'antécédent de traitement par interféron et un profil métastatique ganglionnaire. L'interféron ne semblait pas modifier le profil évolutif de la maladie.

Plusieurs données publiées préalablement à notre étude pourraient potentiellement expliquer ce résultat.

De façon similaire à ce qui a été observé avec la vaccination, la corrélation entre interféron et réponse au traitement suggérée dans notre étude pourrait trouver son explication dans l'idée selon laquelle le blocage du CTLA-4 pourrait favoriser une réaction immunitaire antitumorale préalablement favorisée par l'interféron.

Les interférons (IFN) sont des cytokines pléiotropiques dont le rôle antiviral a été mis en évidence en 1957. Leur intérêt dans la lutte antitumorale a rapidement été objectivé par l'observation de leur capacité à inhiber la croissance cellulaire et moduler le système immunitaire<sup>156,157</sup>. La synthèse d'IFN est induite par les infections virales, bactériennes ou encore suite à la synthèse d'IL-1, IL-2, TNF, macrophage colony stimulating factor (M-CSF) ou facteur de croissance plaquettaire (platelet-derived-growth factor). L'IFN induit la synthèse de centaines de protéines différentes par l'activation de la voie JAK-STAT, principal système de signalisation utilisé par les cellules pour transmettre au noyau l'information extracellulaire de nombreuses cytokines et facteurs de croissance. Trois types d'IFN ont été isolés : le type I qui comprend l'IFN- $\alpha$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$ , et IFN- $\omega$ , le type II (IFN- $\gamma$ ) et le type III (IFN- $\lambda$ ) découvert plus récemment. Le traitement par IFN est la seule thérapie adjuvante approuvée actuellement en Europe dans le traitement du mélanome.

Les mécanismes sous-tendant l'activité antitumorale de l'IFN restent, à l'heure actuelle, très incomplètement élucidés. Les chercheurs ont longtemps supposé que l'inhibition de la croissance tumorale, ou encore les propriétés anti-angiogéniques et pro-apoptotiques de l'IFN étaient les principaux mécanismes sous-tendant son activité antitumorale<sup>158</sup>. Des études plus récentes, ont finalement mis en avant son rôle immunomodulateur de l'immunité innée et adaptatrice. L'IFN contribue à l'activité cytotoxique des lymphocytes T par de multiples mécanismes<sup>159</sup> (figure 13) :

1). Via la stimulation de la présentation croisée des cellules dendritiques :

- par la stimulation de leur maturation

- par le renforcement de leur capacité d'internalisation et de présentation des antigènes tumoraux
- par la stimulation de leur migration vers les ganglions lymphatiques.

- 2). Via l'augmentation de l'expression de perforine 1 et granzyme B par les lymphocytes T cytotoxiques.
- 3). Via le renforcement de la survie des lymphocytes T cytotoxiques mémoires
- 4). Via la stimulation de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 $\beta$ , IL-18) par les macrophages
- 5). Via l'inactivation des fonctions immunosuppressive des lymphocytes T régulateurs

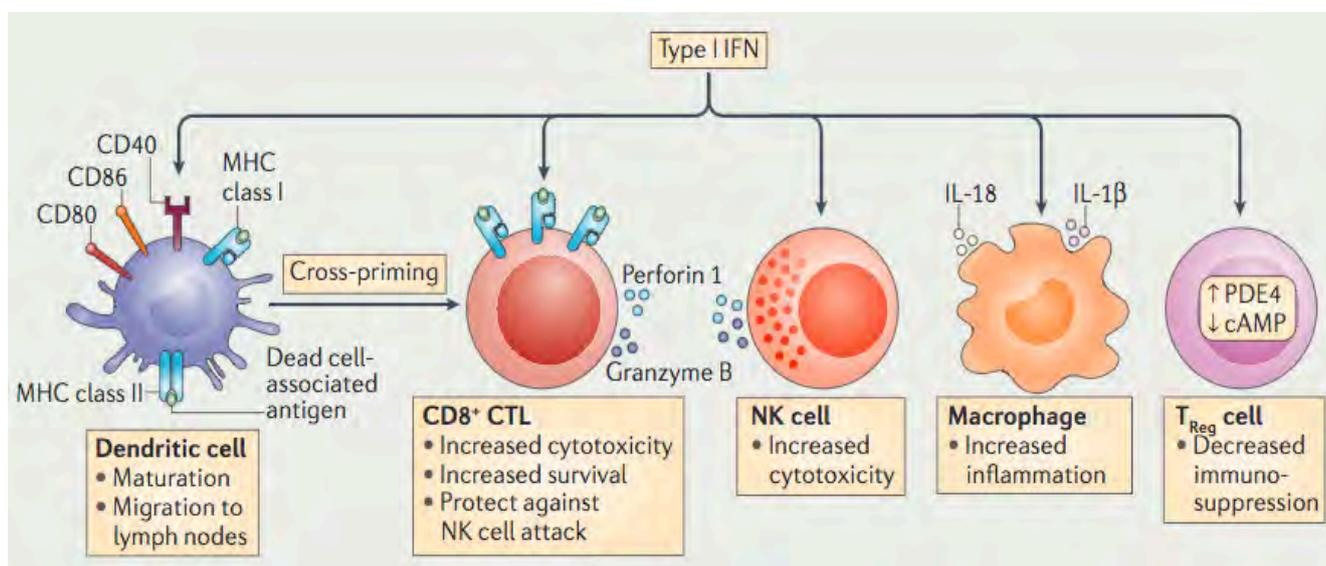


Figure 13 : les multiples rôles de l'interferon de type I dans l'immunité antitumorale.

Zitvogel et al<sup>159</sup>. Type I interferons in anticancer immunity. Nature reviews immunology Jul 2015

L'IFN- $\alpha$ 2b a été le premier agent à démontrer un bénéfice dans le mélanome de stade II/III<sup>162</sup>. D'autres études ont également démontré, par la suite, que l'utilisation de l'IFN en adjuvant pouvait augmenter de façon significative la survie sans progression voire, dans certaines études, la survie globale<sup>163-166</sup>. Ces résultats ont finalement conduit la FDA (Food and Drug Administration) à approuver l'utilisation de l'IFN- $\alpha$ 2b en tant que thérapie adjuvante pour les mélanomes à risque intermédiaire ou élevé.

Sur la base de ces résultats encourageants, une étude de grande ampleur a été menée sur l'utilisation de l'IFN en adjuvant (EORTC-18991). Un total de 1256 patients porteurs d'un mélanome de stade III ont été assignés de façon randomisée dans le bras observation ou IFN- $\alpha$ 2b pégylé 6  $\mu$ g/kg/semaine pendant 8 semaines suivi de 3  $\mu$ g/kg/semaine pour une durée de 5 ans. Les auteurs ont conclu que les patients avec un ganglion sentinelle et un mélanome ulcéré étaient ceux qui bénéficiaient le plus de l'utilisation de l'IFN en terme de

survie sans progression et survie globale<sup>167</sup>. L'interferon est actuellement proposé aux patients en complément de la chirurgie lorsque l'épaisseur de la tumeur est supérieure à 1,5 millimètre et/ou en cas d'invasion ganglionnaire.

Ainsi l'IFN joue donc un rôle clé dans la lutte antitumorale et on peut supposer qu'en modulant le système immunitaire il puisse jouer un rôle synergique avec les anti-CTLA-4. De façon similaire, Bald et al<sup>168</sup> ont démontré que l'activation ciblée de l'IFN I dans le microenvironnement tumoral était associée à une augmentation de l'expression de PD-1 ligand sur les cellules tumorales et de PD-1 sur les lymphocytes T périphériques CD8+, une autre molécule cible en immunothérapie du cancer

Plusieurs études expérimentales ont démontré que les anti-CTLA-4 seuls échouaient à contrôler des tumeurs moins immunogènes telles que le mélanome B16 ou le carcinome mammaire SM1<sup>169,170</sup>. Les cellules B16 n'expriment pas une quantité suffisante de molécule du CMH et sont incapables de déclencher une réponse antitumorale adaptative. Les anti-CTLA-4 jouent un rôle d'amplificateur d'une réponse immunitaire spécifique antigène-dépendante déjà existante. Plusieurs équipes ont cherché à associer différentes immunothérapies afin de potentialiser la réponse antitumorale des anti-CTLA-4.

La vaccination par cellules tumorales de mélanome B16 irradiées modifiées pour sécréter du GM-CSF (Gvax) a été décrite comme le vaccin prophylactique le plus efficace contre B16<sup>171</sup>. Le GM-CSF (Granulocyte macrophage colony-stimulating factor) est une cytokine responsable de la croissance et différenciation des progéniteurs hématopoïétiques et un immunostimulant puissant. Il joue un rôle important dans la maturation et la fonction des CPAg. Ce vaccin reste néanmoins insuffisant à lui seul pour permettre un rejet tumoral lorsqu'il n'est pas utilisé concomitamment à l'injection tumorale. Dans l'étude de Van Elsas et al<sup>169</sup>, la vaccination préalable par des cellules tumorales sécrétant du GM-CSF agissait de façon synergique avec les anti-CTLA4 et permettait une infiltration et un rejet du mélanome B16. La même observation a été faite avec le carcinome mammaire<sup>170</sup>. La puissance de la combinaison du vaccin et des anti-CTLA-4 peut probablement être attribuée à un meilleur amorçage des lymphocytes T par les CPAg de l'hôte par le vaccin et une réponse lymphocytaire fortement potentialisée par les anti-CTLA-4.

Des résultats similaires ont été rapportés par Hodi et al<sup>66</sup> dans une étude de phase I évaluant l'activité biologique et l'efficacité des anti-CTLA-4 des patients atteints d'un mélanome métastatique préalablement vaccinés par Gvax. Alors que les études précliniques testaient l'administration concomitante des deux molécules, cette étude suggère que l'existence d'un délai entre immunisation et administration des anti-CTLA-4 n'empêche pas l'obtention d'un effet antitumoral notable. Une approche similaire est développée avec l'utilisation du thalimogène laherparepvec (T-VEC) depuis octobre 2015. Il s'agit d'un herpes virus HSV1 oncolytique, génétiquement modifié pour se répliquer de façon sélective dans les

cellules cancéreuses, les lysent et produisent du GM-CSF déclenchant une réaction immunitaire antitumorale locale mais aussi à potentiel systémique. T-VEC a démontré son efficacité dans un essai de phase IIB en terme de taux de réponse durable versus le GM-CSF sous-cutané<sup>172</sup>. Puzano et al<sup>172</sup>, dans une étude phase I menée chez 22 patients ont évalué l'association ipilimumab et T-VEC et observé un taux de réponse globale de 56 % dont 33 % de réponses complètes. Les études de phase II sont actuellement en cours ainsi que des évaluations de son administration en stratégie néo-adjuvante ou en association avec les inhibiteurs de PD-1. Il reste cependant à confirmer les résultats observés en phase IIB et démontrer une efficacité systémique reproductible tout en gardant à l'esprit que le thalimogène laherparepvec s'administre par injection intra-tumorale directe, ce qui induit un biais évident de sélection des patients, les lésions injectables étant très préférentiellement sous-cutanées et/ou ganglionnaires.

Toutes ces observations soulèvent la possibilité que les caractéristiques d'une immunité antitumorale pré-existante puisse influencer la réponse aux anti-CTLA-4, et qu'un traitement adjuvant par interféron puisse favoriser le développement de cette réponse immunitaire, même en l'absence de traduction immédiate en termes de réduction du risque de récurrence.

Notre étude est la première suggérant son rôle dans la survenue d'une réponse induite par un traitement par anti-CTLA-4. A l'heure où les études sur les combinaisons thérapeutiques se multiplient l'interféron pourrait retrouver une place de choix en tant qu'agent potentialisateur des immunothérapies (anti-CTLA-4, anti-PD1).

## 4.4 Limitations

Notre étude, comme toute étude rétrospective, reste limitée par la difficulté à contrôler les biais potentiels (de sélection et recueil de données incomplètes ou erronées), ce d'autant que les effectifs restreints sur lesquels elle a été conduite n'ont pas autorisé la conduite d'une analyse multivariée et limitent les capacités de ce travail à mettre en évidence des différences minimales par manque de puissance statistique.

La détermination du statut ganglionnaire des patients avant introduction du traitement par ipilimumab s'est faite par relecture des scanners thoraco-abdominaux pelviens pré-thérapeutiques. Le diagnostic tomodensitométrique d'une adénopathie est aisé mais la détermination de sa nature maligne ou bénigne est beaucoup plus difficile et donc à l'origine de biais de classement non différentiel. Le seul critère fiable de la nature maligne d'un ganglion en tomodensitométrie est l'observation d'un franchissement capsulaire ou d'une infiltration périganglionnaire en faveur d'une carcinose locale. Tous les autres signes sont discutables et notamment la taille des ganglions. Les critères RECIST fixent un seuil de

malignité à 1,5 cm dans le plus petit axe de mesure, cependant il existe de nombreux faux positifs et faux négatifs. La mesure du diamètre doit également s'accompagner d'une analyse d'autres paramètres tels que la forme du ganglion (un ganglion normal est plat ; des petits ganglions arrondis de 5 mm de diamètre peuvent être néoplasiques alors que des ganglions plats de 2,5 cm ne le seront pas) ou encore la nécrose, autre signe en faveur de la malignité néanmoins dont la spécificité reste très insuffisante (tuberculose par exemple).

Par ailleurs, une autre limitation imputable à l'analyse des scanners thoraco-abdominaux pelviens pré-thérapeutiques est le manque de donnée disponible concernant l'évaluation des ganglions cervicaux hauts, sub-mandibulaires ou cruraux étant donné que ces derniers sont situés en dehors des régions anatomiques normalement balayées par les TDM thoraco-abdomino-pelviens. Il est donc possible que la population de patients présentant des localisations ganglionnaires ait été sous-estimée.

Notre étude a été conduite sur une population hétérogène de patients (statuts OMS, taux de LDH, historique thérapeutique...). Cette population est représentative des patients vus quotidiennement en consultation dans les centres d'oncodermatologie, et nos résultats reflètent au moins partiellement l'effet thérapeutique induit par l'ipilimumab en conditions dites de « vie-réelle ». Nous n'avons pas exclu de l'étude les patients décédés dans les 3 premiers mois de traitement du fait d'une maladie très avancée, et mené nos analyses en intention de traiter. A la lumière des connaissances actuelles ces patients n'auraient probablement pas dû être traités par ipilimumab du fait de leur espérance de vie limitée au moment de l'initiation du traitement. Ce « sur-traitement » s'explique par le manque d'alternative thérapeutique prometteuse à l'époque où l'ipilimumab était la seule molécule inhibitrice de checkpoint immunologique accessible en pratique courante, et la connaissance imparfaite du fonctionnement de la molécule. Nous émettons l'hypothèse qu'actuellement plusieurs de ces patients ne seraient pas traités par ipilimumab en première intention et que les résultats observés avec cette molécule soient encore différents de ceux que nous rapportons.

Enfin, du fait de l'absence de groupe contrôle notre étude ne permet pas d'établir si les associations mises en évidence sont des marqueurs pronostiques de la maladie indépendamment des modalités de traitement ou des facteurs prédictifs de la réponse au traitement.

## 5 Conclusion

Notre étude ne met pas en évidence de différence significative de réponse à l'ipilimumab selon le patron métastatique ganglionnaire. En contrepartie, un antécédent de traitement par interféron semble associé à un taux de réponse plus important à cette molécule. Nos résultats doivent être pondérés par des effectifs restreints justifiant des évaluations complémentaires de nos résultats avec une puissance statistique accrue.

Ce résultat suggère cependant un intérêt nouveau pour le traitement adjuvant par interféron des situations métastatiques ganglionnaires régionales après résection complète.

*Vu permis d'imprimer  
Le Doyen de la Faculté  
de Médecine Toulouse - Purpan*



**Didier CARRIÉ**

# Références

---

1. Coley, W. B. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin. Orthop.* 3–11 (1991).
2. Burnet, F. M. Immunological aspects of malignant disease. *Lancet Lond. Engl.* 1, 1171–1174 (1967).
3. McGovern, V. J. Spontaneous regression of melanoma. *Pathology (Phila.)* 7, 91–99 (1975).
4. Barr, R. J. The many faces of completely regressed malignant melanoma. *Pathol. Phila. Pa* 2, 359–370 (1994).
5. Džambová, M. *et al.* Malignant melanoma in organ transplant recipients: incidence, outcomes, and management strategies: a review of literature. *Dermatol. Ther.* 29, 64–68 (2016).
6. Penn, I. Malignant melanoma in organ allograft recipients. *Transplantation* 61, 274–278 (1996).
7. Gogas, H. *et al.* Prognostic significance of autoimmunity during treatment of melanoma with interferon. *N. Engl. J. Med.* 354, 709–718 (2006).
8. Byrne, K. T. & Turk, M. J. New perspectives on the role of vitiligo in immune responses to melanoma. *Oncotarget* 2, 684–694 (2011).
9. Nordlund, J. J. *et al.* Vitiligo in patients with metastatic melanoma: a good prognostic sign. *J. Am. Acad. Dermatol.* 9, 689–696 (1983).
10. Bystryń, J. C., Rigel, D., Friedman, R. J. & Kopf, A. Prognostic significance of hypopigmentation in malignant melanoma. *Arch. Dermatol.* 123, 1053–1055 (1987).
11. Lee, P. P. *et al.* Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nat. Med.* 5, 677–685 (1999).
12. Clemente, C. G. *et al.* Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer* 77, 1303–1310 (1996).
13. Shankaran, V. *et al.* IFN $\gamma$  and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 410, 1107–1111 (2001).
14. Schreiber, R. D., Old, L. J. & Smyth, M. J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 331, 1565–1570 (2011).
15. Dunn, G. P., Old, L. J. & Schreiber, R. D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity* 21, 137–148 (2004).
16. Girardi, M. *et al.* Regulation of cutaneous malignancy by gammadelta T cells. *Science* 294, 605–609 (2001).
17. Smyth, M. J., Godfrey, D. I. & Trapani, J. A. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nat. Immunol.* 2, 293–299 (2001).
18. Koebel, C. M. *et al.* Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state. *Nature* 450, 903–907 (2007).
19. Jäger, E. *et al.* Inverse relationship of melanocyte differentiation antigen expression in melanoma tissues and CD8 $^{+}$  cytotoxic-T-cell responses: evidence for immunoselection of antigen-loss variants in vivo. *Int. J. Cancer* 66, 470–476 (1996).
20. Wrzesinski, S. H., Wan, Y. Y. & Flavell, R. A. Transforming growth factor-beta and the immune response: implications for anticancer therapy. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 13, 5262–5270 (2007).
21. Katz, J. B., Muller, A. J. & Prendergast, G. C. Indoleamine 2,3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunol. Rev.* 222, 206–221 (2008).
22. Terabe, M. & Berzofsky, J. A. Immunoregulatory T cells in tumor immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 16, 157–162 (2004).
23. Gabilovich, D. I. & Nagaraj, S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 9, 162–174 (2009).
24. Dong, H. *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat. Med.* 8, 793–800 (2002).
25. Ott, P. A., Hodi, F. S. & Robert, C. CTLA-4 and PD-1/PD-L1 blockade: new immunotherapeutic

- modalities with durable clinical benefit in melanoma patients. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 19, 5300–5309 (2013).
26. Brunet, J. F. *et al.* A new member of the immunoglobulin superfamily--CTLA-4. *Nature* 328, 267–270 (1987).
  27. Lafage-Pochitaloff, M. *et al.* Human CD28 and CTLA-4 Ig superfamily genes are located on chromosome 2 at bands q33–q34. *Immunogenetics* 31, 198–201 (1990).
  28. Tivol, E. A. *et al.* Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* 3, 541–547 (1995).
  29. Waterhouse, P. *et al.* Lymphoproliferative Disorders with Early Lethality in Mice Deficient in CtlA-4. *Science* 270, 985–988 (1995).
  30. Bretscher, P. The two-signal model of lymphocyte activation twenty-one years later. *Immunol. Today* 13, 74–76 (1992).
  31. Hara, T., Fu, S. M. & Hansen, J. A. Human T cell activation. II. A new activation pathway used by a major T cell population via a disulfide-bonded dimer of a 44 kilodalton polypeptide (9.3 antigen). *J. Exp. Med.* 161, 1513–1524 (1985).
  32. Martin, P. J. *et al.* A 44 kilodalton cell surface homodimer regulates interleukin 2 production by activated human T lymphocytes. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 136, 3282–3287 (1986).
  33. Damle, N. K., Doyle, L. V., Grosmaire, L. S. & Ledbetter, J. A. Differential regulatory signals delivered by antibody binding to the CD28 (Tp44) molecule during the activation of human T lymphocytes. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 140, 1753–1761 (1988).
  34. Lindstein, T., June, C. H., Ledbetter, J. A., Stella, G. & Thompson, C. B. Regulation of lymphokine messenger RNA stability by a surface-mediated T cell activation pathway. *Science* 244, 339–343 (1989).
  35. Ledbetter, J. A. *et al.* CD28 ligation in T-cell activation: evidence for two signal transduction pathways. *Blood* 75, 1531–1539 (1990).
  36. Van Lier, R. A. *et al.* T cell receptor/CD3 and CD28 use distinct intracellular signaling pathways. *Eur. J. Immunol.* 21, 1775–1778 (1991).
  37. June, C. H., Ledbetter, J. A., Linsley, P. S. & Thompson, C. B. Role of the CD28 receptor in T-cell activation. *Immunol. Today* 11, 211–216 (1990).
  38. Jenkins, M. K., Taylor, P. S., Norton, S. D. & Urdahl, K. B. CD28 delivers a costimulatory signal involved in antigen-specific IL-2 production by human T cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 147, 2461–2466 (1991).
  39. Linsley, P. S. & Ledbetter, J. A. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen. *Annu. Rev. Immunol.* 11, 191–212 (1993).
  40. Kuiper, H. M., Brouwer, M., Linsley, P. S. & van Lier, R. A. Activated T cells can induce high levels of CTLA-4 expression on B cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 155, 1776–1783 (1995).
  41. Wang, X.-B. *et al.* Expression of CTLA-4 by human monocytes. *Scand. J. Immunol.* 55, 53–60 (2002).
  42. Laurent, S. *et al.* CTLA-4 is expressed by human monocyte-derived dendritic cells and regulates their functions. *Hum. Immunol.* 71, 934–941 (2010).
  43. Kaufman, K. A. *et al.* The CTLA-4 gene is expressed in placental fibroblasts. *Mol. Hum. Reprod.* 5, 84–87 (1999).
  44. Nagaraju, K. *et al.* Costimulatory markers in muscle of patients with idiopathic inflammatory myopathies and in cultured muscle cells. *Clin. Immunol. Orlando Fla* 92, 161–169 (1999).
  45. Contardi, E. *et al.* CTLA-4 is constitutively expressed on tumor cells and can trigger apoptosis upon ligand interaction. *Int. J. Cancer* 117, 538–550 (2005).
  46. Shah, K. V., Chien, A. J., Yee, C. & Moon, R. T. CTLA-4 is a direct target of Wnt/beta-catenin signaling and is expressed in human melanoma tumors. *J. Invest. Dermatol.* 128, 2870–2879 (2008).
  47. van der Merwe, P. A., Bodian, D. L., Daenke, S., Linsley, P. & Davis, S. J. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J. Exp. Med.* 185, 393–403 (1997).
  48. Collins, A. V. *et al.* The interaction properties of costimulatory molecules revisited. *Immunity* 17, 201–210 (2002).
  49. Read, S., Malmström, V. & Powrie, F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J. Exp. Med.* 192, 295–302 (2000).
  50. Takahashi, T. *et al.* Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J. Exp. Med.* 192, 303–310 (2000).

51. Walker, L. S. K. & Sansom, D. M. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses. *Nat. Rev. Immunol.* 11, 852–863 (2011).
52. Lee, K. M. *et al.* Molecular basis of T cell inactivation by CTLA-4. *Science* 282, 2263–2266 (1998).
53. Schneider, H., Valk, E., Leung, R. & Rudd, C. E. CTLA-4 activation of phosphatidylinositol 3-kinase (PI 3-K) and protein kinase B (PKB/AKT) sustains T-cell anergy without cell death. *PloS One* 3, e3842 (2008).
54. Yokosuka, T. *et al.* Spatiotemporal basis of CTLA-4 costimulatory molecule-mediated negative regulation of T cell activation. *Immunity* 33, 326–339 (2010).
55. Schneider, H. *et al.* Reversal of the TCR stop signal by CTLA-4. *Science* 313, 1972–1975 (2006).
56. Munn, D. H. *et al.* Inhibition of T cell proliferation by macrophage tryptophan catabolism. *J. Exp. Med.* 189, 1363–1372 (1999).
57. Grohmann, U. *et al.* CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo. *Nat. Immunol.* 3, 1097–1101 (2002).
58. Chen, W., Jin, W. & Wahl, S. M. Engagement of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) induces transforming growth factor beta (TGF-beta) production by murine CD4(+) T cells. *J. Exp. Med.* 188, 1849–1857 (1998).
59. Oaks, M. K. & Hallett, K. M. Cutting edge: a soluble form of CTLA-4 in patients with autoimmune thyroid disease. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 164, 5015–5018 (2000).
60. Qureshi, O. S. *et al.* Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science* 332, 600–603 (2011).
61. Goldrath, A. W. & Bevan, M. J. Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire. *Nature* 402, 255–262 (1999).
62. Krummel, M. F. & Allison, J. P. CTLA-4 engagement inhibits IL-2 accumulation and cell cycle progression upon activation of resting T cells. *J. Exp. Med.* 183, 2533–2540 (1996).
63. Keir, M. E., Butte, M. J., Freeman, G. J. & Sharpe, A. H. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 26, 677–704 (2008).
64. Walunas, T. L. *et al.* CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1, 405–413 (1994).
65. Leach, D. R., Krummel, M. F. & Allison, J. P. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 271, 1734–1736 (1996).
66. Hodi, F. S. *et al.* Biologic activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 4712–4717 (2003).
67. Phan, G. Q. *et al.* Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 8372–8377 (2003).
68. Peggs, K. S., Quezada, S. A., Chambers, C. A., Korman, A. J. & Allison, J. P. Blockade of CTLA-4 on both effector and regulatory T cell compartments contributes to the antitumor activity of anti-CTLA-4 antibodies. *J. Exp. Med.* 206, 1717–1725 (2009).
69. Simpson, T. R. *et al.* Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *J. Exp. Med.* 210, 1695–1710 (2013).
70. Hodi, F. S. *et al.* Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 363, 711–723 (2010).
71. Robert, C. *et al.* Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.* 364, 2517–2526 (2011).
72. European Medicines Agency - Find medicine - Yervoy. Available at: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002213/human\\_med\\_001465.jsp&mid=WC0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/002213/human_med_001465.jsp&mid=WC0b01ac058001d124). (Accessed: 18th July 2016)
73. Larkin, J. *et al.* Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 373, 23–34 (2015).
74. Robert, C. *et al.* Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N. Engl. J. Med.* 372, 2521–2532 (2015).
75. Weber, J. S. *et al.* Sequential administration of nivolumab and ipilimumab with a planned switch in patients with advanced melanoma (CheckMate 064): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 17, 943–955 (2016).
76. Eggermont, A. M. M. *et al.* Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-

- risk stage III melanoma (EORTC 18071): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 16, 522–530 (2015).
77. Schadendorf, D. *et al.* Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 1889–1894 (2015).
  78. Maio, M. *et al.* Five-year survival rates for treatment-naive patients with advanced melanoma who received ipilimumab plus dacarbazine in a phase III trial. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 1191–1196 (2015).
  79. Weber, J. S., Kähler, K. C. & Hauschild, A. Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30, 2691–2697 (2012).
  80. Camacho, L. H. CTLA-4 blockade with ipilimumab: biology, safety, efficacy, and future considerations. *Cancer Med.* 4, 661–672 (2015).
  81. Eisenhauer, E. A. *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 45, 228–247 (2009).
  82. Wolchok, J. D. *et al.* Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 15, 7412–7420 (2009).
  83. Hodi, F. S. *et al.* Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 3005–3010 (2008).
  84. Hodi, F. S. *et al.* CTLA-4 blockade with ipilimumab induces significant clinical benefit in a female with melanoma metastases to the CNS. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 5, 557–561 (2008).
  85. Horvat, T. Z. *et al.* Immune-Related Adverse Events, Need for Systemic Immunosuppression, and Effects on Survival and Time to Treatment Failure in Patients With Melanoma Treated With Ipilimumab at Memorial Sloan Kettering Cancer Center. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 3193–3198 (2015).
  86. McDermott, D. *et al.* Efficacy and safety of ipilimumab in metastatic melanoma patients surviving more than 2 years following treatment in a phase III trial (MDX010-20). *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* 24, 2694–2698 (2013).
  87. Harmankaya, K. *et al.* Continuous systemic corticosteroids do not affect the ongoing regression of metastatic melanoma for more than two years following ipilimumab therapy. *Med. Oncol.* 28, 1140–1144 (2010).
  88. Kyi, C., Carvajal, R. D., Wolchok, J. D. & Postow, M. A. Ipilimumab in patients with melanoma and autoimmune disease. *J. Immunother. Cancer* 2, 35 (2014).
  89. Gettings, E. J., Hackett, C. T. & Scott, T. F. Severe relapse in a multiple sclerosis patient associated with ipilimumab treatment of melanoma. *Mult. Scler. Houndmills Basingstoke Engl.* 21, 670 (2015).
  90. Onze avis favorables pour de nouvelles AMM : retour sur la réunion d’avril 2015 du CHMP - Point d’Information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Available at: <http://ansm.sante.fr/S-informer/Travaux-de-l-Agence-Europeenne-des-Medicaments-EMA-Comite-des-medicaments-a-usage-humain-CHMP/Onze-avis-favorables-pour-de-nouvelles-AMM-retour-sur-la-reunion-d-avril-2015-du-CHMP-Point-d-Information>. (Accessed: 20th July 2016)
  91. Huit avis favorables pour de nouvelles AMM : retour sur la réunion de mai 2015 du CHMP - Point d’Information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Available at: <http://ansm.sante.fr/S-informer/Travaux-de-l-Agence-Europeenne-des-Medicaments-EMA-Comite-des-medicaments-a-usage-humain-CHMP/Huit-avis-favorables-pour-de-nouvelles-AMM-retour-sur-la-reunion-de-mai-2015-du-CHMP-Point-d-Information>. (Accessed: 20th July 2016)
  92. Downey, S. G. *et al.* Prognostic Factors Related to Clinical Response in Patients with Metastatic Melanoma Treated by CTL-Associated Antigen-4 Blockade. *Clin. Cancer Res.* 13, 6681–6688 (2007).
  93. Attia, P. *et al.* Autoimmunity correlates with tumor regression in patients with metastatic melanoma treated with anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 23, 6043–6053 (2005).
  94. Association between immune-related adverse events (irAEs) and disease control or overall survival in patients (pts) with advanced melanoma treated with 10 mg/kg ipilimumab in three phase II clinical trials. *J. Clin. Oncol.*
  95. Beck, K. E. *et al.* Enterocolitis in patients with cancer after antibody blockade of cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 24, 2283–2289 (2006).
  96. Teulings, H.-E. *et al.* Vitiligo-like depigmentation in patients with stage III-IV melanoma

- receiving immunotherapy and its association with survival: a systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 773–781 (2015).
97. Clark, W. H. *et al.* Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J. Natl. Cancer Inst.* 81, 1893–1904 (1989).
  98. Mihm, M. C., Clemente, C. G. & Cascinelli, N. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node melanoma metastases: a histopathologic prognostic indicator and an expression of local immune response. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 74, 43–47 (1996).
  99. Sato, E. *et al.* Intraepithelial CD8<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8<sup>+</sup>/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 18538–18543 (2005).
  100. Nakano, O. *et al.* Proliferative activity of intratumoral CD8(+) T-lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell carcinoma: clinicopathologic demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res.* 61, 5132–5136 (2001).
  101. Naito, Y. *et al.* CD8<sup>+</sup> T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 58, 3491–3494 (1998).
  102. Ribas, A. *et al.* Intratumoral Immune Cell Infiltrates, FoxP3, and Indoleamine 2,3-Dioxygenase in Patients with Melanoma Undergoing CTLA4 Blockade. *Am. Assoc. Cancer Res.* 15, 390–399 (2009).
  103. Huang, R. R. *et al.* CTLA4 blockade induces frequent tumor infiltration by activated lymphocytes regardless of clinical responses in humans. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 17, 4101–4109 (2011).
  104. Hamid, O. *et al.* A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J. Transl. Med.* 9, 204 (2011).
  105. Yeung, A. W. S., Terentis, A. C., King, N. J. C. & Thomas, S. R. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in health and disease. *Clin. Sci.* 129, 601–672 (2015).
  106. Mbongue, J. C. *et al.* The Role of Indoleamine 2, 3-Dioxygenase in Immune Suppression and Autoimmunity. *Vaccines* 3, 703–729 (2015).
  107. Spranger, S. *et al.* Up-regulation of PD-L1, IDO, and T(regs) in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8(+) T cells. *Sci. Transl. Med.* 5, 200ra116 (2013).
  108. Dong, C. *et al.* ICOS co-stimulatory receptor is essential for T-cell activation and function. *Nature* 409, 97–101 (2001).
  109. Ito, T. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells prime IL-10-producing T regulatory cells by inducible costimulator ligand. *J. Exp. Med.* 204, 105–115 (2007).
  110. Martin-Orozco, N. *et al.* Melanoma cells express ICOS ligand to promote the activation and expansion of T-regulatory cells. *Cancer Res.* 70, 9581–9590 (2010).
  111. Fu, T., He, Q. & Sharma, P. The ICOS/ICOSL pathway is required for optimal antitumor responses mediated by anti-CTLA-4 therapy. *Cancer Res.* 71, 5445–5454 (2011).
  112. Fan, X., Quezada, S. A., Sepulveda, M. A., Sharma, P. & Allison, J. P. Engagement of the ICOS pathway markedly enhances efficacy of CTLA-4 blockade in cancer immunotherapy. *J. Exp. Med.* 211, 715–725 (2014).
  113. Liakou, C. I. *et al.* CTLA-4 blockade increases IFN $\gamma$ -producing CD4<sup>+</sup>ICOS<sup>hi</sup> cells to shift the ratio of effector to regulatory T cells in cancer patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 14987–14992 (2008).
  114. Tang, D. N. *et al.* Increased Frequency of ICOS<sup>+</sup> CD4 T Cells as a Pharmacodynamic Biomarker for Anti-CTLA-4 Therapy. *Cancer Immunol. Res.* 1, 229–234 (2013).
  115. Carthon, B. C. *et al.* Preoperative CTLA-4 blockade: tolerability and immune monitoring in the setting of a presurgical clinical trial. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 16, 2861–2871 (2010).
  116. Yuan, J. *et al.* CTLA-4 blockade enhances polyfunctional NY-ESO-1 specific T cell responses in metastatic melanoma patients with clinical benefit. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 20410–20415 (2008).
  117. Yuan, J. *et al.* Integrated NY-ESO-1 antibody and CD8<sup>+</sup> T-cell responses correlate with clinical benefit in advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108, 16723–16728 (2011).
  118. Bunt, S. K. *et al.* Reduced inflammation in the tumor microenvironment delays the accumulation of myeloid-derived suppressor cells and limits tumor progression. *Cancer Res.* 67, 10019–10026 (2007).
  119. Marigo, I., Dolcetti, L., Serafini, P., Zanovello, P. & Bronte, V. Tumor-induced tolerance and

- immune suppression by myeloid derived suppressor cells. *Immunol. Rev.* 222, 162–179 (2008).
120. Makarenkova, V. P., Bansal, V., Matta, B. M., Perez, L. A. & Ochoa, J. B. CD11b+/Gr-1+ myeloid suppressor cells cause T cell dysfunction after traumatic stress. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 176, 2085–2094 (2006).
121. Almand, B. *et al.* Increased production of immature myeloid cells in cancer patients: a mechanism of immunosuppression in cancer. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 166, 678–689 (2001).
122. Weide, B. *et al.* Myeloid-derived suppressor cells predict survival of patients with advanced melanoma: comparison with regulatory T cells and NY-ESO-1- or melan-A-specific T cells. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 20, 1601–1609 (2014).
123. Martens, A. *et al.* Baseline Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome of Advanced Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 22, 2908–2918 (2016).
124. Kitano, S. *et al.* Computational algorithm-driven evaluation of monocytic myeloid-derived suppressor cell frequency for prediction of clinical outcomes. *Cancer Immunol. Res.* 2, 812–821 (2014).
125. Yuan, J. *et al.* Pretreatment serum VEGF is associated with clinical response and overall survival in advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *Cancer Immunol. Res.* 2, 127–132 (2014).
126. Hodi, F. S. *et al.* Bevacizumab plus ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer Immunol. Res.* 2, 632–642 (2014).
127. Wolchok, J. D. *et al.* Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncol.* 11, 155–164 (2010).
128. Ku, G. Y. *et al.* Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting: lymphocyte count after 2 doses correlates with survival. *Cancer* 116, 1767–1775 (2010).
129. Delyon, J. *et al.* Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma: an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. *Ann. Oncol.* 24, 1697–1703 (2013).
130. Di Giacomo, A. M. *et al.* Ipilimumab experience in heavily pretreated patients with melanoma in an expanded access program at the University Hospital of Siena (Italy). *Cancer Immunol. Immunother. CII* 60, 467–477 (2011).
131. Association of peripheral blood absolute lymphocyte count (ALC) and clinical activity in patients (pts) with advanced melanoma treated with ipilimumab. *J. Clin. Oncol.*
132. Ferrucci, P. F. *et al.* Baseline neutrophils and derived neutrophil-to-lymphocyte ratio: prognostic relevance in metastatic melanoma patients receiving ipilimumab. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* 27, 732–738 (2016).
133. Balch, C. M. *et al.* Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 27, 6199–6206 (2009).
134. Kelderman, S. *et al.* Lactate dehydrogenase as a selection criterion for ipilimumab treatment in metastatic melanoma. *Cancer Immunol. Immunother. CII* 63, 449–458 (2014).
135. Gatenby, R. A. & Gillies, R. J. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat. Rev. Cancer* 4, 891–899 (2004).
136. Fantin, V. R., St-Pierre, J. & Leder, P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance. *Cancer Cell* 9, 425–434 (2006).
137. Lardner, A. The effects of extracellular pH on immune function. *J. Leukoc. Biol.* 69, 522–530 (2001).
138. Ratner, S. Motility of IL-2-stimulated lymphocytes in neutral and acidified extracellular matrix. *Cell. Immunol.* 139, 399–410 (1992).
139. Valpione, S. *et al.* Personalised medicine: Development and external validation of a prognostic model for metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 51, 2086–2094 (2015).
140. Gruss, C. J. *et al.* Stroma Formation and Angiogenesis by Overexpression of Growth Factors, Cytokines, and Proteolytic Enzymes in Human Skin Grafted to SCID Mice. *J. Invest. Dermatol.* 120, 683–692 (2003).
141. Shamamian, P. *et al.* Activation of progelatinase A (MMP-2) by neutrophil elastase, cathepsin G, and proteinase-3: a role for inflammatory cells in tumor invasion and angiogenesis. *J. Cell. Physiol.* 189, 197–206 (2001).
142. Simon, R. Clinical trials for predictive medicine: new challenges and paradigms. *Clin. Trials Lond. Engl.* 7, 516–524 (2010).

143. Koguchi, Y. *et al.* Serum Immunoregulatory Proteins as Predictors of Overall Survival of Metastatic Melanoma Patients Treated with Ipilimumab. *Cancer Res.* 75, 5084–5092 (2015).
144. Prado, C. M. M. *et al.* Sarcopenia as a determinant of chemotherapy toxicity and time to tumor progression in metastatic breast cancer patients receiving capecitabine treatment. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 15, 2920–2926 (2009).
145. Antoun, S., Baracos, V. E., Birdsell, L., Escudier, B. & Sawyer, M. B. Low body mass index and sarcopenia associated with dose-limiting toxicity of sorafenib in patients with renal cell carcinoma. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol. ESMO* 21, 1594–1598 (2010).
146. Sabel, M. S. *et al.* Morphomics predicts response to ipilimumab in patients with stage IV melanoma. *J. Surg. Oncol.* 112, 333–337 (2015).
147. Alexandrov, L. B. *et al.* Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 500, 415–421 (2013).
148. Allen, E. M. V. *et al.* Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science* 350, 207–211 (2015).
149. Snyder, A. *et al.* Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N. Engl. J. Med.* 371, 2189–2199 (2014).
150. van Rooij, N. *et al.* Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an ipilimumab-responsive melanoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 31, e439-442 (2013).
151. Manola, J., Atkins, M., Ibrahim, J. & Kirkwood, J. Prognostic factors in metastatic melanoma: a pooled analysis of Eastern Cooperative Oncology Group trials. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 18, 3782–3793 (2000).
152. Efficacy of cobimetinib (C) and vemurafenib (V) in advanced BRAF-mutated melanoma patients (pts) with poor and favorable prognosis in the coBRIM phase III study. *J. Clin. Oncol.*
153. Dickson, P. V. & Gershenwald, J. E. Staging and Prognosis of Cutaneous Melanoma. *Surg. Oncol. Clin. N. Am.* 20, 1–17 (2011).
154. Weide, B. *et al.* Serum S100B, lactate dehydrogenase and brain metastasis are prognostic factors in patients with distant melanoma metastasis and systemic therapy. *PLoS One* 8, e81624 (2013).
155. Davies, M. A. *et al.* Prognostic factors for survival in melanoma patients with brain metastases. *Cancer* 117, 1687–1696 (2011).
156. Gresser, I. & Burali, C. Exogenous interferon and inducers of interferon in the treatment Balb-c mice inoculated with RC19 tumour cells. *Nature* 223, 844–845 (1969).
157. Paucker, K., Cantell, K. & Henle, W. Quantitative studies on viral interference in suspended L cells. III. Effect of interfering viruses and interferon on the growth rate of cells. *Virology* 17, 324–334 (1962).
158. Mechanisms of Interferon-alpha induced apoptosis in malignant cells. *Publ. Online 14 Febr. 2002 Doi101038sjonc1205179* 21, (2002).
159. Zitvogel, L., Galluzzi, L., Kepp, O., Smyth, M. J. & Kroemer, G. Type I interferons in anticancer immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 15, 405–414 (2015).
160. Kirkwood, J. M. *et al.* Immunomodulatory effects of high-dose and low-dose interferon  $\alpha$ 2b in patients with high-risk resected melanoma. *Cancer* 95, 1101–1112 (2002).
161. Biron, C. A. Interferons  $\alpha$  and  $\beta$  as Immune Regulators—A New Look. *Immunity* 14, 661–664 (2001).
162. Kirkwood, J. M. *et al.* Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 14, 7–17 (1996).
163. Eggermont, A. M. M. *et al.* Post-surgery adjuvant therapy with intermediate doses of interferon alfa 2b versus observation in patients with stage IIb/III melanoma (EORTC 18952): randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* 366, 1189–1196 (2005).
164. Mocellin, S., Pasquali, S., Rossi, C. R. & Nitti, D. Interferon alpha adjuvant therapy in patients with high-risk melanoma: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* 102, 493–501 (2010).
165. Pehamberger, H. *et al.* Adjuvant interferon alfa-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. Austrian Malignant Melanoma Cooperative Group. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 16, 1425–1429 (1998).
166. Ascierto, P. A., Palmieri, G., Parasole, R., Daponte, A. & Castello, G. 3-year treatment with recombinant interferon-alpha as adjuvant therapy of cutaneous malignant melanoma. *Int. J. Mol. Med.* 3, 303–306 (1999).

167. Eggermont, A. M. M. *et al.* Long-term results of the randomized phase III trial EORTC 18991 of adjuvant therapy with pegylated interferon alfa-2b versus observation in resected stage III melanoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 30, 3810–3818 (2012).
168. Bald, T. *et al.* Immune Cell-Poor Melanomas Benefit from PD-1 Blockade after Targeted Type I IFN Activation. *Cancer Discov.* 4, 674–687 (2014).
169. van Elsas, A., Hurwitz, A. A. & Allison, J. P. Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-producing vaccines induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied by autoimmune depigmentation. *J. Exp. Med.* 190, 355–366 (1999).
170. Hurwitz, A. A., Yu, T. F., Leach, D. R. & Allison, J. P. CTLA-4 blockade synergizes with tumor-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for treatment of an experimental mammary carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 10067–10071 (1998).
171. Dranoff, G. *et al.* Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 3539–3543 (1993).
172. Andtbacka, R. H. I. *et al.* Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 33, 2780–2788 (2015).

**Annexe 1 :** Stadification de la sévérité des effets indésirables selon la classification NCI CTCAE V4.0.

|         |   |
|---------|---|
| Grade 1 | Léger ; asymptomatique ou symptômes légers ; diagnostic à l'examen clinique uniquement ; ne nécessitant pas de traitement   |
| Grade 2 | Modéré ; nécessitant un traitement minimal, local ou non-invasif ; interférant avec les activités instrumentales de la vie quotidienne*   |
| Grade 3 | Sévère ou médicalement significatif mais sans mise en jeu immédiate du pronostic vital ; indication d'hospitalisation ou de prolongation d'hospitalisation ; invalidant ; interférant avec les activités élémentaires de la vie quotidienne** |
| Grade 4 | Mise en jeu du pronostic vital ; nécessitant une prise en charge en urgence   |
| Grade 5 | Décès lié à l'EI  |

\*Les activités instrumentales de la vie quotidienne font référence à la capacité à préparer ses repas, faire les courses (alimentation, vêtements), utiliser un téléphone, gérer son argent...

\*\*Les activités élémentaires de la vie quotidienne font référence à la capacité de faire sa toilette, de s'habiller et se déshabiller, manger seul, aller aux toilettes, prendre ses médicaments et ne pas rester alité.

*D'après Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 May 28, 2009*

## Annexe 2 : critères recueillis pour l'étude

### **Données démographiques**

- Age au diagnostic
- Sexe
- Poids, taille

### **Données concernant la tumeur primitive**

- Date de diagnostic
- Localisation : tête et cou, membre supérieur, membre inférieur, tronc, muqueuse, sans primitif connu
- Type histologique : SMM, nodulaire, inclassable, acral, desmoplasique, dubreuilh, muqueux
- Breslow
- Présence ou non d'une ulcération
- Index mitotique
- Présence ou non d'une mutation (BRAF, NRAS, c-kit...)
- Stade TNM au diagnostic

### **Histoire de la maladie cancéreuse**

- Prescription d'interféron en adjuvant
- Date de première métastase
- TNM et stade à première métastase
- Type de première ligne
- Date de progression après première ligne

### **Etat de la maladie à l'initiation du traitement par ipilimumab**

- Nombre d'organes atteints à l'initiation
- Présence ou non de métastase cérébrale à l'initiation
- TNM à l'initiation
- Evaluation radiologique

### **Déroulement du traitement par ipilimumab**

- Numéro de ligne de traitement
- Date de première injection
- Nombres d'injections d'ipilimumab reçues
- Toxicités
- Efficacité du traitement à 16 semaines : progression, stabilité, rémission complète, rémission partielle

### **Devenir**

- Date de progression après ipilimumab
- Traitement systémique ou non après ipilimumab
- Traitement interventionnel ou non après ipilimumab e
- Date de dernières nouvelles
- Etat au dernière nouvelle : vivant, décédé  
Si vivant : statut de la maladie : progression, stabilité, rémission complète, rémission partielle
- Si décès : cause
- Traitement aux dernières nouvelles

**Annexe 3** : grilles de lecture des scanners avant traitement par ipilimumab

| Organe      | Mesure grand axe lésion cible 1 (mm) | Mesure grand axe lésion cible 2 (mm) |  |
|-------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|
| Foie        |                                      |                                      |  |
| Poumon      |                                      |                                      |  |
| Tissus mous |                                      |                                      |  |
| Os          |                                      |                                      |  |
| Crâne       |                                      |                                      |  |
| Surrénale   |                                      |                                      |  |
| Péritoine   |                                      |                                      |  |
| Rate        |                                      |                                      |  |
| Sein        |                                      |                                      |  |
| Pancréas    |                                      |                                      |  |

| Ganglions lymphatiques | Mesure petit axe lésion cible 1 (mm) | Mesure petit axe lésion cible 2 (mm) | Mesure petit axe lésion cible 3 (mm) |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| sus-diaphragmatique    |                                      |                                      |                                      |
| sous-diaphragmatiques  |                                      |                                      |                                      |

**Annexe 4 :** évaluation scannographique avant traitement par ipilimumab : métastases ganglionnaires actives.

| <b>Ganglions</b>               |     | <b>Population globale</b> | <b>Non répondeur (n = 40)</b> | <b>Répondeur (n = 18)</b> | <b>P value</b> |
|--------------------------------|-----|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------|
| Totaux (n = 58)                | Non | 32 (55 %)                 | 23 (57,5 %)                   | 9 (50 %)                  | 0,5952         |
|                                | Oui | 26 (45 %)                 | 17 (42,5 %)                   | 9 (50 %)                  |                |
| Sus-diaphragmatiques (n = 58)  | Non | 36 (62 %)                 | 26 (65 %)                     | 10 (55,6 %)               | 0,4928         |
|                                | Oui | 22 (38 %)                 | 14 (35 %)                     | 8 (44,4%)                 |                |
| Sous-diaphragmatiques (n = 57) | Non | 44 (77,2 %)               | 30 (76,9 %)                   | 14 (77,8 %)               | 1,000          |
|                                | Oui | 13 (22,8%)                | 9 (23,1%)                     | 4 (22,2%)                 |                |
|                                | ND  | 1                         | 1                             | 0                         |                |

**Annexe 5** : évaluation scannographique avant traitement par ipilimumab : métastases autres que ganglionnaires.

| <b>Organe</b>                  | <b>Population globale</b> | <b>Non répondeur (n = 40)</b> | <b>Répondeur (n = 18)</b> | <b>P value</b> |
|--------------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|----------------|
| Foie (n = 57)                  | Non (n = 42)              | 27 (69,2 %)                   | 15 (83,3 %)               | 0,342          |
|                                | Oui (n = 15)              | 12 (30,8 %)                   | 3 (16,7 %)                |                |
|                                | ND (n = 1)                | 1                             | 0                         |                |
| Poumon (n = 58)                | Non (n = 35)              | 22 (55 %)                     | 13 (72,2 %)               | 0,215          |
|                                | Oui (n = 23)              | 18 (45 %)                     | 5 (27,8 %)                |                |
| Os (n = 57)                    | Non (n = 50)              | 34 (87,2 %)                   | 16 (88,9 %)               | 1,000          |
|                                | Oui (n = 7)               | 5 (12,8 %)                    | 2 (11,1 %)                |                |
|                                | ND (n = 1)                | 1                             | 0                         |                |
| Tissus mou (n = 57)            | Non (n = 37)              | 25 (64,1%)                    | 12 (66,7%)                | 0,850          |
|                                | Oui (n = 20)              | 14 (35,9%)                    | 6 (33,3%)                 |                |
|                                | ND (n = 1)                | 1                             | 0                         |                |
| Crâne (n = 58)                 | Non (n = 48)              | 32 (80 %)                     | 16 (88,9 %)               | 1,000          |
|                                | Oui (n = 10)              | 8 (20 %)                      | 2 (11,1%)                 |                |
| Glande surrénale (n = 57)      | Non (n = 52)              | 34 (87,2%)                    | 18 (100,0%)               | 0,168          |
|                                | Oui (n = 5)               | 5 (12,8%)                     | 0 (0,0%)                  |                |
|                                | ND (n = 1)                | 1                             | 0                         |                |
| Carcinose péritonéale (n = 57) | Non (n = 45)              | 30 (76,9%)                    | 15 (83,3%)                | 0,734          |
|                                | Oui (n = 12)              | 9 (23,1%)                     | 3 (16,7%)                 |                |
|                                | ND (n = 1)                | 1                             | 0                         |                |
| Sein (n = 58)                  | Non (n = 53)              | 37 (92,5%)                    | 16 (88,9%)                | 0,641          |
|                                | Oui (n = 5)               | 3 (7,5%)                      | 2 (11,1%)                 |                |
|                                | ND (n=1)                  | 1                             | 0                         |                |
| Rate (n = 57)                  | Non (n = 55)              | 38 (97,4%)                    | 17 (94,4%)                | 0,536          |
|                                | Oui (n = 2)               | 1 ( 2,6%)                     | 1 (5,6%)                  |                |
|                                | ND (n=1)                  | 1                             | 0                         |                |
| Pancréas (n = 57)              | Non (n = 54)              | 37 (94,9%)                    | 17 (94,4%)                | 1,000          |
|                                | Oui (n = 3)               | 2 (5,1%)                      | 1 (5,6%)                  |                |
|                                | ND (n=1)                  | 1                             | 0                         |                |

**Annexe 6** : Survie globale à 6 mois en fonction de l'atteinte ganglionnaire

| <b>Ganglion</b> | <b>Evt/N</b> | <b>Surv (t = 6)</b> | <b>IC95%</b>    | <b>P value</b> |
|-----------------|--------------|---------------------|-----------------|----------------|
| Non             | 21/32        | 58,81 %             | [39,78 ; 73,65] | 0,5781         |
| Oui             | 15/26        | 61,09 %             | [39,71 ; 76,87] |                |

# ETUDE DU PROFIL METASTATIQUE GANGLIONNAIRE COMME FACTEUR PRONOSTIQUE DE REPONSE A L'IPILIMUMAB

---

## RESUME EN FRANÇAIS :

L'ipilimumab est un anticorps monoclonal anti-CTLA-4 qui a montré son efficacité dans le mélanome. Alors que de plus en plus de molécules sont disponibles, l'identification de facteurs prédictifs de réponse est un enjeu majeur. L'ipilimumab agit sur le compartiment lymphatique de l'immunité. Nous avons mené une étude rétrospective afin d'évaluer si le statut ganglionnaire était prédictif de la réponse à l'IPi. Les scanners de référence étaient relus afin d'identifier, mesurer et localiser anatomiquement 6 cibles ganglionnaires tumorales principales et les localisations des organes profonds. Le statut ganglionnaire était confronté à la réponse thérapeutique observée. 58 patients ont été inclus, 26 avaient des métastases ganglionnaires. Dix-huit patients étaient répondeurs (réponse partielle, complète, stabilité), 40 en progression. 9 (50 %) patients répondeurs avait au moins une cible ganglionnaire contre 17 (42,5 %) non-répondeurs (NS). Un traitement adjuvant par INF était significativement plus fréquent chez les répondeurs (53,3 % vs 18,4 % ;  $p = 0.0179$ ). Notre étude n'a pas permis de mettre en évidence de réponse thérapeutique à l'ipilimumab statistiquement associée à un patron métastatique ganglionnaire possiblement du fait d'un manque de puissance. Nous observons cependant que les répondeurs semblaient avoir plus fréquemment reçu de l'INF adjuvant. Les résultats de notre étude suggèrent l'intérêt d'une évaluation plus large de la valeur prédictive d'un traitement préalable par l'INF et du patron métastatique sur la réponse à l'ipilimumab.

---

TITRE EN ANGLAIS : Lymph node metastasis : prognostic relevance in metastatic melanoma patients receiving ipilimumab

---

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée clinique

---

MOTS-CLÉS : cancer, mélanome métastatique, CTLA-4, immunothérapie, ipilimumab

---

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier  
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,  
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

---

Directeur de thèse : Nicolas MEYER