UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2021 THESES 2021/TOU3/2027

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement par
Fanny AMOUYAL

PRISE EN CHARGE DES COLITES AUTO-IMMUNES ET IMPACT DES ANTI-TNF DANS L'IMMUNOTHÉRAPIE DU MÉLANOME AVANCÉ

Vendredi 11 juin 2021

Directeur de thèse : Bruno Ségui

JURY

Président	Madame Elisa Boutet
1er assesseur	Monsieur Nicolas Meyer
2ème assesseur	Madame Laurence Nieto
3ème assesseur	Monsieur Bruno Ségui
4ème assesseur	Madame Lynda Nacache

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1er octobre 2020

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. GAIRIN J.E.	Pharmacologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUAJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERAEVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

M. François-Xavier TOUBLET	Chimie Thérapeutique

REMERCIEMENTS

A mon directeur de thèse, Bruno Ségui,

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de diriger ce sujet, pour vos précieux conseils ainsi que pour votre grande disponibilité malgré les circonstances tout au long de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de mon respect et de ma plus vive reconnaissance.

Aux membres du Jury,

Lynda Nacache, Elisa Boutet, Laurence Nieto, Nicolas Meyer et Bruno Segui

Pour l'honneur qu'ils me font en acceptant de juger ce travail et en assistant à ma soutenance.

Merci à Elisa Boutet de m'avoir accompagnée durant le parcours recherche et épaulée dans les moments de doute.

Merci à Laurence Nieto d'avoir cru en moi durant le Master EGPR.

Merci à Nicolas Meyer de m'avoir permis de travailler sur ce sujet de thèse.

Merci à Lynda Nacache d'avoir accepté et pris le temps de juger ce travail hors de sa zone de confort. Merci pour tous ces rires et ces discussions.

A mes titulaires, Patricia et Cécile,

Pour m'avoir permis d'apprendre, d'apprécier et de m'épanouir dans un nouveau métier. Pour m'avoir donnée la motivation et l'envie.

A ma famille,

Grands-mères, Grand-pères, Tantes, Oncles, Cousins, Cousines, Parents, Frère

Merci d'être la force, la bonne humeur, l'évasion, l'expérience et le soutien dont j'ai besoin, chacun à votre manière. Merci pour ces moments de joie et de partage, surtout lorsque c'est

autour d'un bon repas chez les grands-mères. J'aurai des centaines d'éloges à faire sur chacun de vous… vous auriez pu être un sujet de thèse avec félicitations du jury à vous seuls.

A mes parents,

Je vous remercie d'avoir fait en sorte que je ne manque jamais de rien, d'avoir été un soutien sans faille pendant ces années d'études et d'être toujours présents au quotidien et même aujourd'hui, malgré la distance.

Je vous remercie d'avoir été et d'être mes psychologues, mes professeurs, mes banquiers, mes restaurateurs, mon agence de voyage, mes pompiers, mes taxis, mes auxiliaires de vie, mes conseillers en investissement immobilier, mes agents de sécurité, mes téléconseillers…Mes parents quoi ! J'espère vous rendre fières. Je vous aime.

Tu vois, mam, finalement je l'aurai passée ma thèse, il ne fallait pas s'inquiéter !

Dady … B1J, BPTJ !

A mon frère, Alexandre, le grand, l'unique,

La meilleure version de moi-même. Merci d'être le petit frère rêvé. Merci de me faire autant rire. Merci d'être une source de motivation et d'inspiration pour ta vieille sœur.

Ne change pas (= ne prend pas la grosse tête quand tu seras chirurgien des hôpitaux de Marseille).

A mes amis, potes et connaissances dont je ne ferai pas une liste et qui se reconnaitront. Anciens toulousains qui m'ont permis de me forger et nouveaux marseillais qui me permettent d'évoluer. Merci pour ces moments de vie. Avec une mention toute particulière pour **Lara** qui a traversé ces deux périodes ; du collège toulousain à la vie active marseillaise. Je suis très heureuse de t'avoir toujours à mes côtés 12 ans après. Merci pour ces longues conversations et

pizz' sur la plage qui remontent le moral. J'espère être amie avec toi jusqu'à ce qu'on tricote sur des bancs marseillais et qu'on se rappelle à quel point Hugh Grant était un bel homme.

Aussi surprenant que cela puisse paraitre, à **Thomas**,
Je ne me voyais pas clôturer les années pharma sans te remercier de les avoir toutes traversées avec moi. Merci pour tous ces beaux moments de vie que nous avons partagés sans lesquels mes années d'études auraient été beaucoup plus fades. Je te souhaite d'être heureux.

Et sans grande surprise, à celles qui ont fait de mes années pharma les années du bonheur, mes quatre fantastiques : **Camille, Rose, Alice et Lucile.**
Vous avez rythmé toutes mes années pharma (et plus) par des moments de vie exceptionnels de Toulouse à Marseille, par ces centaines (ou milliers) de soirées depuis chez tonton jusqu'au Shamrock, par ces voyages de Bangkok à Santorin en passant par Amsterdam. Vous êtes des filles incroyables chacune à votre manière avec qui je traverse les années pour mon plus grand bonheur :
Al, par ton engagement, par ton altruisme, par ton endurance, par ton humour. Tu es inspirante.
Luss, par ta détermination (surtout quand il s'agit de soirée !), par ta force de caractère, par ta manière de ne jamais te plaindre, par ta joie de vivre. Je suis admirative.
Rosite, par ton aura touchant tous les gens qui croisent ton chemin, par ta bonne humeur et ta positivité, par ta tendresse et ta bienveillance. Boafan te trouve Toplaï Laï Laï.
Cam, par ta douceur, par ton humour, ta disponibilité et ton attention, par ton charisme, par ta générosité. Merci d'avoir été là dans les meilleurs moments et de m'avoir aidée à me relever dans les plus durs (merci pour toutes les petites cuillères que tu as utilisées). Tu es essentielle à ma vie !
Je vous aime les filles.

TABLE DES MATIERES

Remerciements **2**

Table des matieres **6**

Figures **9**

Abréviations **11**

PARTIE 1 Le mélanome **13**

Épidémiologie *16*
Incidence et mortalité en France métropolitaine 16
Incidence 16
Mortalité 17
Variations géographiques dans le monde 17
États-Unis 18
Australie et Nouvelle Zélande 19
Europe 19

Oncogenèse du mélanome *20*
Facteurs de risques 20
Exposition au soleil 20
Mutations des protéines de la voie des MAPK 23
Mutation de TP53 et MDM4 25
Autres facteurs de risque génétiques 26
Phototype 26
Phénotype nævique 28
Croissance tumorale 29
Évolution naturelle de la maladie 30
Facteurs pronostiques 30
Risque évolutif 31

Prise en charge thérapeutique du mélanome *32*
Traitement chirurgical 34
Traitement par chimiothérapie 35
Traitement par thérapie ciblée 36
Les inhibiteurs sélectifs de BRAF 37
Les inhibiteurs sélectifs de MEK 37
Association inhibiteur BRAF et inhibiteur MEK 38
Résistance 38
Traitement par immunothérapie basée sur les anticorps neutralisant les immune-checkpoints 39

Rôle du système immunitaire dans la lutte contre le cancer *41*
Les acteurs de l'immunité 42
Lymphocyte B 42
Anticorps ou immunoglobulines 42
Le complexe majeur d'histocompatibilité 43
Lymphocyte T 43
Mécanisme d'immunité anti-tumorale 45
Phase initiatrice 45
Phase effectrice 46
Échappement au système immunitaire 47
L'axe CTLA-4/CD28 48
Ipilimumab 50
L'axe PD-1/PD-L1 PD-L2 53

Nivolumab et pembrolizumab 54
Thérapie combinée anti-PD-1 et anti-CTLA-4 56

PARTIE 2 Traitement de la colite secondaire aux immunothérapies 60

Effets secondaires inflammatoires dus au blocage des points de contrôle immunitaires 61
Prise en charge des effets indésirables digestifs 63
Prise en charge d'une toxicité de grade 1 63
Prise en charge d'une toxicité de grade 2 64
Prise en charge d'une toxicité de grade 3 sous monothérapie 64
Prise en charge d'une toxicité de grade 4 (ou grade 3 sous bithérapie) 65
La réponse aux glucocorticoïdes 66

Le TNFα et la colite 67
TNFα : production et signalisation 67
Les effets de la signalisation du TNFα 69
TNFα et inflammation 70
Les Anti-TNFα pour limiter les colites réfractaires aux corticoïdes 71
Les anti-TNFα 72
Anticorps monoclonaux 72
Protéines de fusion mimant le TNF-R2 soluble humain 74
Fragment d'anticorps Fab humanisé 75

PARTIE 3 Les anti-TNFa dans L'immunothérapie du mélanome 77

Les anti-TNFA dans l'immunothérapie des mélanomes en clinique 78
TNFα, un agent anti-tumoral 79
TNFα, un agent pro-tumoral 79
Toxicité des ICI et survie des patients 81
Impact du traitement anti-TNFα sur la survie des patients atteints de mélanome 82

Études précliniques sur l'utilisation des anti-TNF dans le mélanome expérimental 88

Pourquoi le blocage du TNFα a-t-il un impact bénéfique sur l'immunité anti-tumorale ? 90
Dédifférenciation des cellules du mélanome 90
Infiltration, survie et réponse des lymphocytes T CD8+ 91
La proportion et l'activation des LT CD8+ est augmentée chez les souris déficientes en TNFα 91
La teneur des tumeurs mélaniques en LT CD8+ est augmentée de manière TNFR1-dépendante 93
La densité des vaisseaux HEV est augmentée chez les souris déficientes en TNFα 95
Les LT $CD8^+$ infiltrant la tumeur conservent un potentiel cytotoxique chez les souris déficientes en TNFα 96
Le TNFα déclenche la mort cellulaire induite par l'activation (AICD) des LT CD8+ 97
Déplétion des LT CD8+ chez la souris 99
Expression de TIM-3 et PD-L1 100
Le TNFα stimule l'expression de TIM3 et PD-L1 100
Les anti-PD1 augmentent l'expression de TIM-3 et de PD-L1 de manière dépendante du TNFα 101

Études in silico sur des biopsies de mélanome humain 104

PARTIE 4 essai clinique TICIMEL chez des patients atteints de mélanome avancé 107

Objectif de l'essai TICIMEL 110
Objectif principal 110
Objectifs secondaires 110
Critères d'inclusion et de non-inclusion 111
Inclusion 111
Non inclusion 112
Design de l'essai TICIMEL 112

Premiers résultats de l'essai ticimel 116
Évaluation des réponses systémiques immunitaires 119

Conclusion **124**

Bibliographie **130**

FIGURES

Figure 1. Estimation des taux d'incidence et de mortalité du mélanome cutané selon les pays en 2020, pour les deux sexes et tous les âges 18
Figure 2. BRAF, NRAS, PTEN et CDKN2A sont les gènes les plus fréquemment mutés dans le mélanome cutané 22
Figure 3. Activation physiologique de la cascade des signalisation voie des MAPK et PI3K. 24
Figure 4. Effet de la mutation BRAF ^{V600E} sur l'activation de la voie des MAPK et la survie, l'invasion et la prolifération cellulaire. 25
Figure 5. Arbre décisionnel de prise en charge thérapeutique du mélanome 33
Figure 6. Traitement ciblant la voie des MAPK dans le mélanome métastatique. 36
Figure 7. Contrôle des cellules tumorales par le système immunitaire. 46
Figure 8. Cycle d'amplification de la réponse immunitaire anti-tumorale 47
Figure 9. Compétition entre le CD28 et CTLA-4 pour la liaison au B7 des CPA. Le type de liaison défini le devenir du LT, apoptose anegie ; prolifération, différenciation ou fonction effectrices ; ou arrêt du cycle cellulaire. T cell : Lymphocyte T. APC : cellules présentatrices d'antigène 49
Figure 10. Signalisation du domaine intracellulaire de CTLA-4 50
Figure 11. Rétablissement de la liaison entre le CD28 et B7 par inhibition du CTLA-4 par l'ipilimumab permet la restimulation du LT par la cellule dendritique (CPA) 51
Figure 12. Inhibition de la signalisation activatrice des LT émanant du TCR et de CD28 et B7 par le PD-1 53
Figure 13. Rétablissement de la liaison entre le CD28 et B7 par inhibition du PD-1 ou PD-L1 55
Figure 14. Action en deux points sur le cycle d'amplification de la réponse immunitaire anti-tumorale de la thérapie combinant anti-CTLA-4 et anti-PD-1 57
Figure 15. Algorithme de prise en charge des effets indésirables gastro-intestinaux liés à l'immunothérapie 65
Figure 16. Voies de signalisation du TNF 68
Figure 17. Le TNF est impliqué dans la colite induite par le blocage des points de contrôle immunitaire chez les patients 71
Figure 18. Représentation de l'anticorps monoclonal infliximab 73
Figure 19. Représentation des anticorps adalimumab et golimumab 74
Figure 20. Représentation du TNF-R2 soluble, l'etanercept 75
Figure 21. Représentation du Fab' humanisé, le certolizumab 76
Figure 22. Estimations de Kaplan-Meier pour la survie globale chez les patients atteints de mélanome 81
Figure 23. Estimations de Kaplan-Meier pour la survie globale chez les patients atteints de mélanome traités par un inhibiteur du point de contrôle immunitaire en première ligne avec des irAE sévères recevant des stéroïdes seuls, des anti-TNF associés, ou non, aux stéroïdes 83
Figure 24. Analyse Kaplan-Meier de la survie globale des patients atteints d'un mélanome de stade IV 84
Figure 25. Les anti-TNF améliorent la réponse aux anti-PD-1 dans un modèle de mélanome chez la souris 88
Figure 26. Blocage concomitant du TNF, de PD-1 et de CTLA-4 dans un modèle préclinique de cancer du côlon 89
Figure 27. La teneur en LT CD8+ spécifiques de TRP2 est plus élevée dans les tumeurs dérivées d'animaux déficients en TNFα 90
Figure 28. Accumulation des LT activés dans les ganglions chez les souris déficientes en TNF 92
Figure 29. Le déficit en TNFR1 réduit la tumorigenèse et augmente les LT CD8+ dans les tumeurs B16K1 94
Figure 30. Infiltration lymphocytaire et analyse des HEV dans les tumeurs de mélanome de souris sauvages ou déficientes en TNF 96
Figure 31. Un déficit en TNFR1 altère la mort cellulaire induite par le TNFα exogène et l'activation de la caspase-3 dans les LT CD8+ activées 97
Figure 32. Proportion de TIL CD8 + et CD4 + morts chez des souris sauvages (WT) ou déficientes en TNF (TNF-/-) traitées avec de l'anti-PD-1 98
Figure 33. Impact de la déplétion des lymphocytes T CD8 sur la croissance du mélanome chez les souris déficientes en WT et en TNF 99
Figure 34. Le TNF induit l'expression de TIM-3 sur les cellules T CD8 + 101
Figure 35. Le blocage du TNF empêche la régulation à la hausse du TIM-3 sur les TIL en réponse à l'anti-PD-1 102
Figure 36. Le TNF induit l'expression de PD-L1 sur les TIL 102
Figure 37. L'expression du TNF est associée à une signature du gène d'échappement immunitaire dans le mélanome métastatique humain 105

Figure 38. Les anti-TNFα augmentent la réponse des anti-PD-1 contre le mélanome *106*
Figure 39. Design de l'essai clinique TICIMEL *114*
Figure 40. Événements indésirables liés aux traitements *117*
Figure 41. Signes clairs d'efficacité chez les patients traités par nivolumab, ipilimumab et anti-TNF *118*
Figure 42. Augmentation du nombre de lymphocytes T dans le sang des patients atteints de mélanome avancé traités par nivolumab et ipilimumab en association avec le certolizumab ou l'infliximab *121*
Figure 43. Augmentation du nombre de cellules apparentées aux Th1 dans le sang des patients traités par nivIolumab et ipilimumab associés au certolizumab ou à l'infliximab *122*
Figure 44. L'association de l'anti-TNFα et de l'anti-PD-1 est plus efficace que le traitement anti-PD-1 seul pour traiter les mélanomes. *127*

Tableau 1. Résultats de suivi des patients à 5ans CheckMate-067 ..... *59*
Tableau 2. IrAE des traitements nivolumab plus ipilimumab, nivolumab seul et ipilimumab seul en fonction des grades *62*
Tableau 3. Caractéristiques démographiques et de base des patients de l'étude TICIMEL *115*
Tableau 4. Synthèse des premiers résultats de l'étude TICIMEL *116*
Tableau 5. Synthèse de résultats de variation des composantes immunitaires dans l'étude TICIMEL *119*

ABRÉVIATIONS

ADCC	Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
ADCP	Antibody-Dependent Cellular Phagocytosis
ADN	Acide desoxyribonucléique
AICD	Activation-induced cell death
AJCC	American Joint Committee on Cancer
AMM	Autorisation de mise sur le marché
BCR	B-cell receptor
CD	Cellule dendritique
CDK	Cycline D-kinases dépendantes des cyclines
CDKN2A	Cyclin dependent kinase inhibitor 2A
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA	Cellule présentatitrce d'antigène
CRCT	Centre de recherche en cancérologie de Toulouse
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
DLT	Dose limiting toxicity
DSS	4,4-diméthyl-4-silapentane-1-sulfonique
ERK	Extracellular signal-regulated kinases
ERK	Extracellular signal-regulated kinases
Fab	Fragment antigen binding région
Fc	Fragment constant
GTP	Guanosine triphosphate
HEV	High endothelial venules
HLA	Human leukocyte antigen
HR	Hazard Ratio
IC	Intervalle de confiance
ICI	Immun checkpoint inhibitor
IFN	Interferon
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IrEA	Immune related adverse events
ITIM	Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif
ITSM	Immunoreceptor tyrosine-based switch motif
LB	Lymphocytes B
LDH	Lactate déshydrogénase
LT	Lymphocyte T
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
MC38	Murine Carcinoma-38
MDM4	Murine double minute 4
MDSC	Myeloid-derived suppressor cells
Mg/Kg	Miligramme par kilogramme

Mg/M2	Miligramme par mètre carré
Mm	Millimètre
mTOR	Mechanistic target of rapamycin
NCI	National Cancer Institute
NF-κB	Nuclear factor-kappa B
NK	Natural Killer
NYHA	New York Heart Association
OMS	Organisation mondiale de la santé
PD-1	Programmed death 1
PDL-1	Programmed death-ligand 1
PDL-2	Programmed death-ligand 2
pERK	Extracellular signal-regulated kinases phosphorylé
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PP2A	Protéine phosphatase 2
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RR	Risque relatif
S0	Semaine 0
S6	Semaine 6
SaO2	Saturation en oxygène
SC	Sous cutanné
SIDA	Syndrome d'immunodéficience acquise
TCR	T cell receptor
TERT	Telomerase reverse transcriptase
TGF	Transforming growth factor
TICIMEL	TNF-Inhibitor as Immune Checkpoint Inhibitor for Advanced MELanoma
TIL	Tumor infiltrating lymphocytes
TIM-3	T-cell immunoglobulin and mucin containing protein-3
TNF	Tumor necrosis factor
TP53	Tumor protein 53
Treg	Lymphocytes T regulateurs
TRP2	Tyrosinase-related protein2
TSM	Taux de mortalité standardisé
UV	Ultraviolet
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
WT	Wild Type

PARTIE 1
LE MELANOME

La **peau** est le plus gros organe de l'être humain. Elle reçoit des informations sensitives, notamment la température et les sensations du toucher. Elle joue un rôle de protection du corps contre les agressions extérieures non mécaniques (barrière séparatrice), chimique (hydrophobie), radiatives (contre les radiations ultraviolette (UV))[1]. Elle est aussi la première barrière de la réponse immunitaire[2] [3]. Sa structure est complexe, elle se subdivise en quatre couches superposées qui sont, de la profondeur vers la superficie : l'hypoderme, le derme, la jonction dermo-épidermique et l'épiderme[4].gty

L'**épiderme** est un épithélium de revêtement, stratifié, pavimenteux et kératinisé. Il est composé de quatre sous-couches qui sont, de la profondeur vers la superficie : la couche basale la couche spineuse, la couche granuleuse et la couche cornée. Il est constitué de quatre types cellulaires: les kératinocytes, les cellules de Langerhans, les cellules de Merkel et les mélanocytes[4].

Les **mélanocytes** représentent la deuxième grande population cellulaire de l'épiderme. Ce sont des cellules dérivées de la crête neurale qui se trouvent principalement dans l'épiderme basal, dans les follicules pileux, le long des surfaces muqueuses, des méninges et dans la couche choroïdienne de l'œil. Il y a approximativement 1500 mélanocytes par millimètre carré sur l'épiderme humain, c'est-à-dire en moyenne 3 milliards de mélanocytes cutanés chez l'Homme[5]. Ce sont les cellules pigmentaires de l'organisme, leur fonction est la synthèse des mélanines[6].

La synthèse des mélanines a lieu dans des organites cytoplasmiques spécialisés, les mélanosomes, et sont ensuite transférés aux kératinocytes[7]. Les kératinocytes utilisent la mélatonine pour protéger la peau des dommages à l'ADN causés par les UV[8]. Sous diverses influences, telles que des expositions répétées aux UV, les mélanocytes peuvent subir des

dommages à l'ADN provoquant l'acquisition de mutation et leur prolifération anarchique causant la formation d'un mélanome[9].

Le mélanome est une tumeur se développant à partir des mélanocytes. Bien qu'il représente moins de 5% des cancers de la peau, le mélanome est responsable de 80% des décès dus à un cancer cutané dans le monde[10]. Le mélanome malin est donc la forme la plus mortelle de cancer de la peau et l'incidence de ce cancer ne cesse d'augmenter.

ÉPIDEMIOLOGIE

L'incidence du mélanome possède l'augmentation annuelle de l'incidence la plus élevée dans le monde (tous cancers confondus) [11] [12] et double tous les 10 à 20 ans environ[13] [14]. En 2020, à l'échelle mondiale, 324 635 nouveaux cas ont été recensés avec 57 043 décès[15].

Incidence et mortalité en France métropolitaine

Contrairement aux autres tumeurs solides, le mélanome affecte les personnes d'âge moyen, même si les taux d'incidence et de mortalité augmentent avec l'âge. Les âges médians au diagnostic et au décès sont respectivement de 66 et 71 ans chez l'homme et de 60 et 73 ans chez la femme[16].

Incidence

On estime à 15 513 le nombre de nouveaux cas de mélanome de la peau en France métropolitaine en 2018, dont 51% chez l'homme. Les taux d'incidence standardisés Monde (TSM) (Les taux de mortalité/incidence standardisés selon l'âge permettent de comparer les zones, en supprimant les effets des différences de structure par âge de la population. Les taux de mortalité standardisés proposés pour chaque zone sont calculés en prenant en compte la structure par âge quinquennal de la population) sont de 14,2 cas pour 100 000 chez l'homme et chez la femme[16].

Chez l'homme, le nombre de cas incidents de mélanome de la peau a presque été multiplié par 4 (+371%) entre 1990 et 2018. Cette évolution est essentiellement due à l'augmentation du risque dont la part attribuable est de +288%, l'accroissement et le vieillissement de la population étant respectivement responsables d'une augmentation du nombre de cas de 59% et 24%[16].

Chez la femme, le nombre de cas incidents a presque été multiplié par 2 (+189%) entre 1990 et 2018. Cette évolution est essentiellement due à l'augmentation du risque dont la part attribuable est de +135%, l'accroissement et le vieillissement de la population étant respectivement responsables d'une augmentation du nombre de cas de 39% et 15%[16].

Mortalité

On estime à 1 975 le nombre de décès en 2018 dont 57 % chez l'homme. Les TSM sont respectivement de 1,7 chez l'homme et 1,0 chez la femme[16].

Chez l'homme, le TSM a légèrement augmenté entre 1990 et 2018, passant d'un taux de 1,3 pour 100 000 en 1990 à un taux de 1,7 en 2018 (en moyenne +0,9 % par an), mais s'est stabilisé sur la période récente 2010-2018. Les tendances par âge montrent une augmentation uniquement chez les sujets les plus âgés (de +0,6 % par an chez les hommes de 60 ans sur la période 1990-2018, mais avec une diminution depuis 2010, jusqu'à +2,7 % par an chez les hommes de 80 ans).

Chez la femme, le taux de mortalité est stable sur l'ensemble de la période. Les tendances par âge montrent une légère augmentation du taux de mortalité chez les femmes de 70 et 80 ans (respectivement +0,6 % et +0,8 % par an)[16].

Variations géographiques dans le monde

Il existe de grandes disparités géographiques *(figure1)* mais aussi ethniques, par exemple, la population blanche a un risque environ 10 fois plus élevé de développer un mélanome cutané que les populations noires ou hispaniques[14].

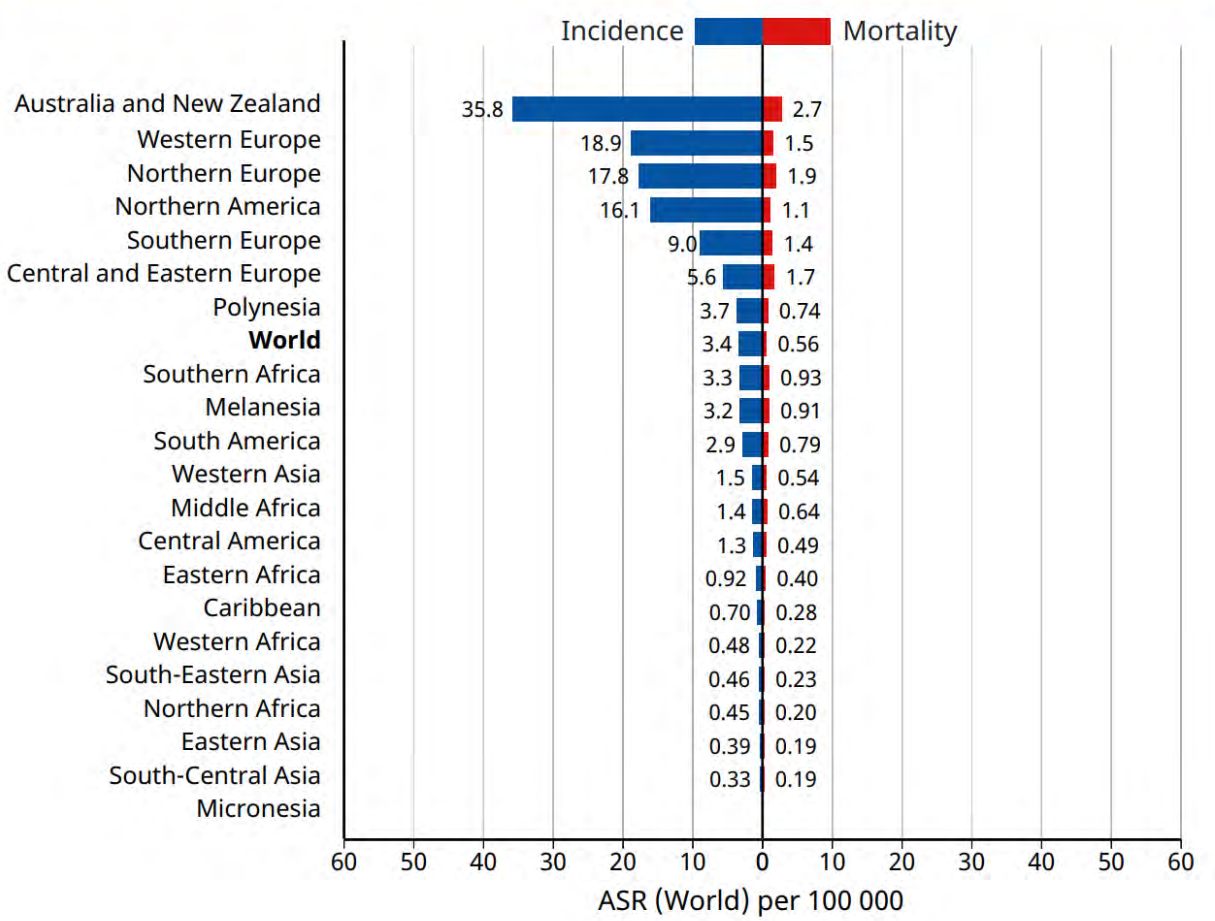


Figure 1. Estimation des taux d'incidence et de mortalité du mélanome cutané selon les pays en 2020, pour les deux sexes et tous les âges

Extrait de Globocan 2020, International Agency for Research on Cancer 2020[15]

États-Unis

Le mélanome est désormais considéré comme le 5ème cancer le plus fréquent chez l'homme et le 6ème cancer le plus fréquent chez la femme aux États-Unis, où l'incidence du mélanome malin de 1973 à 2011 a augmenté de 195% (de 6,8 à 20,1 pour 100 000). Actuellement, 1 Américain sur 63 développera un mélanome au cours de sa vie[17]. Le programme américain de surveillance, d'épidémiologie et de résultat final (SEER) a estimé qu'environ 793 283 personnes en vie aux États-Unis avaient des antécédents de mélanome invasif (385 054 hommes et 408 229 femmes) [18].

Australie et Nouvelle Zélande

À l'échelle mondiale, c'est en Australie et en Nouvelle-Zélande qu'on enregistre les taux d'incidence les plus élevés (35,8 pour 100 000 en 2020[15]), en particulier au Queensland (Australie), où l'incidence est égale à 55,8 pour 100 000 pour les hommes et à 41,1 pour 100 000 pour les femmes[14].

Europe

En Europe, il existe un gradient de taux d'incidence avec les taux les plus élevés dans les pays du Nord et les plus bas dans les pays du Sud. Les taux d'incidence sont les plus élevés en Suisse et dans les pays scandinaves (Norvège, Suède et Danemark)[14]. Cela est probablement dû à une protection accrue contre les rayons UV des peaux pigmentées, mais aussi à la différence du schéma solaire (chronique plutôt qu'intermittente en Europe du sud)[14 19]. Cependant on observe de grandes disparités dans les pays voisins. Les gradients inversés et disparités ne peuvent donc pas s'expliquer uniquement par l'exposition solaire mais aussi par les caractéristiques génétiques des populations sur lesquels nous reviendrons dans une partie suivante, ou les facteurs économiques permettant de voyager dans des pays à plus forte exposition[20].

Les données sur le mélanome de la majorité des pays montrent une augmentation rapide de l'incidence de ce cancer, il est donc essentiel d'en comprendre les mécanismes biologiques afin d'avoir la prise en charge la plus adaptée possible.

ONCOGENESE DU MELANOME

Le mélanome apparaît *de novo* sur une peau saine dans la majorité des cas (70-80%) mais peut aussi résulter de la transformation maligne d'un *nævus* (ou grains de beauté, tumeurs bénignes constituées de groupements de mélanocytes)[21] [22]. Certains *nævus* sont congénitaux (présents dès la naissance mais pas toujours assez pigmentés pour être visibles) et considérés, en particulier dans les formes géantes, comme un facteur de risque de développement d'un mélanome. La plupart des *nævi* sont acquis, et leur nombre à l'âge adulte semble en partie lié à l'importance des UV reçus pendant l'enfance, surtout avant l'âge de 10 ans[23] [24].

Le mélanome est une tumeur comportant une charge mutationnelle très importante[25]. La propagation du mélanome est le résultat de mutations génétiques et d'altérations microenvironnementales tumorales, caractérisées par la surexpression de protéines capables de favoriser l'invasion tumorale et l'infiltration environnante et donc de développer des métastases. Il a pu être démontré le caractère pilote de certaines mutations dans l'oncogenèse du mélanome. Ces mutations, qui affectent différentes voies de signalisation, caractérisent le profil plus ou moins agressif de la tumeur et de ses métastases et permettent d'ébaucher une classification moléculaire à visée pronostique et thérapeutique. Le mode d'exposition aux UV conditionne en partie la quantité et le type d'anomalies génétiques.

Facteurs de risques

Exposition au soleil

Le rayonnement UV est un rayonnement électromagnétique émis par le soleil ou par une source artificielle[19]. Les UV constituent, d'un point de vue énergétique, la partie la plus active du rayonnement solaire auquel sont soumis les organismes vivants. Une partie des UV

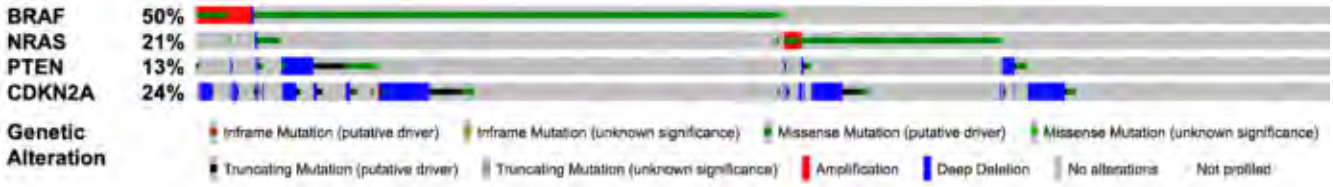
sont en théorie absorbés par la couche d'ozone. Toutefois, en raison de son amincissement dans certaines régions du globe, la lumière solaire parvenant à la surface de la Terre a tendance à s'enrichir en rayonnements UV_A et UV_B [26]. La peau est bien entendu la première cible des rayonnements UV. L'épiderme atténue la transmission des rayonnements UV_B de courte longueur d'onde, mais laisse passer les rayonnements moins énergétiques[1] : Les UV_A pénètrent beaucoup plus profondément dans la peau, et sont à l'origine de lésions de l'ADN.

Le rôle des UV sur la genèse des mélanomes est lié au fait que, contrairement aux kératinocytes qui sont éliminés par apoptose lorsque leur ADN a accumulé des dommages photo-induits irréversibles, les mélanocytes seraient par nature moins sensibles à l'apoptose induite par les UV et pourraient donc accumuler des mutations. Si la lésion n'est pas réparée, le passage de certaines polymérases (enzymes réplicatives du cycle cellulaire) à travers cette lésion (synthèse translésionnelle TLS), peut être associé à l'insertion d'une base incorrecte en face des bases lésées. La TLS est alors qualifiée d'«infidèle» et une mutation apparaît au cycle de réplication suivant. La probabilité de mutagénèse au niveau d'un site particulier dépend de la fréquence des lésions, de leur cinétique de réparation mais également des caractéristiques intrinsèques des lésions qui détermine leur potentiel mutagène[27].

On distingue 4 types de mode d'exposition aux UV :

- L'exposition solaire intermittente correspond à des expositions brutales et brèves de zones cutanées habituellement protégées du soleil
- L'exposition solaire chronique correspond à de faibles doses d'UV délivrées au quotidien avec effet cumulatif sur la durée d'une vie
- L'exposition solaire très faible
- L'exposition solaire nulle

Les mutations les plus fréquentes dans les mélanomes cutanés exposés au soleil de façon chronique ou intermittente affectent les gènes qui contrôlent des voies de signalisation cellulaires, tels que la prolifération (voie des MAPK *Mitogen-activated protein kinases*), la croissance et le métabolisme (homologue de la phosphatase et de la tension PTEN et le récepteur du proto-oncogène tyrosine kinase KIT), le du cycle cellulaire (inhibiteur de la kinase cycline-dépendante 2A CDKN2A) *(figure 2),* l'apoptose (p53), et la durée de vie réplicative (télomérase transcriptase inverse TERT)[28].



(a)

A	B	NEITHER	A NOT B	B NOT A	BOTH	LOG2 ODDS RATIO	P-VALUE	Q-VALUE	TENDENCY
BRAF	NRAS	241	453	177	28	<-3	<0.001	<0.001	Mutual exclusivity
BRAF	PTEN	392	391	26	90	1.795	<0.001	<0.001	Co-occurrence
PTEN	CDKN2A	606	73	177	43	1.012	<0.001	0.001	Co-occurrence
BRAF	CDKN2A	336	343	82	138	0.721	<0.001	0.001	Co-occurrence
NRAS	PTEN	595	188	99	17	-0.880	0.014	0.017	Mutual exclusivity
NRAS	CDKN2A	534	145	160	60	0.466	0.044	0.044	Co-occurrence

(b)

Figure 2. BRAF, NRAS, PTEN et CDKN2A sont les gènes les plus fréquemment mutés dans le mélanome cutané

Taux de mutation, altération génétique (a) et exclusivité mutuelle (b) pour les mutations BRAF, NRAS, PTEN et CDKN2A observées dans 1635 échantillons de 1584 patients inclus dans 12 études

Extrait de cBioportal pour la génomique du cancer

Les mélanomes de la peau exposée au soleil de façon chronique apparaissent généralement chez les personnes âgées (> 55 ans), sur les zones exposées au soleil de façon chronique, comme la tête et le cou, ainsi que la région dorsale des membres supérieurs. Les mélanomes associés à une exposition chronique ne surviennent généralement pas sous forme de *nævus* préexistants,

mais de mélanomes *in situ* ou de lésions dysplasiques et portent un ensemble différent de mutations[29]. Les principaux facteurs génétiques sont les proto-oncogènes de la voie des MAPK. Généralement, ces mélanomes ont une charge mutationnelle élevée liée à l'exposition aux UV[30] [24] [31].

D'un autre côté, les mélanomes de la peau exposée au soleil de façon intermittente apparaissent généralement chez les personnes jeunes (<55 ans), sur des zones moins exposées au soleil, comme le tronc et les extrémités proximales, et sont généralement associés à la mutation $BRAF^{V600E}$ et à une charge mutationnelle plus faible[24] [31] [29].

Les mélanocytes de divers sites anatomiques peuvent donner naissance à des types de mélanome phénotypiquement divers. Ils diffèrent par leur site anatomique d'origine, le degré d'exposition cumulative aux rayons UV, l'âge de l'hôte, la charge de mutation et les types d'altération[31] [24].

Mutations des protéines de la voie des MAPK

Dans le mélanome, un des éléments clés lié à la pathogénicité est donc la dérégulation de la voie de signalisation des MAPK. Cette voie de signalisation intracellulaire régule des processus cellulaires majeurs, dont la prolifération, la différenciation, la migration et la survie cellulaire. La voie des MAPK dépend de l'activation des récepteurs tyrosine kinase (RTK) par leurs ligands au niveau membranaire puis de la cascade de phosphorylation de la GTPase RAS, et des sérine/thréonine kinases **BRAF**, MEK et ERK. Le dernier maillon de cette chaîne ERK, une fois phosphorylée (pERK), intègre le noyau par translocation, puis active les facteurs de transcription responsables de la prolifération et de la survie cellulaire. Dans le contexte du mélanome, une mutation activatrice de BRAF ou de NRAS est associée à une prolifération et à une survie cellulaire accrue *(figure 3)* [32] [33].

En parallèle, la voie PI3K / AKT / mTOR est un autre régulateur clé de la croissance cellulaire et de la synthèse des protéines. La voie des MAPK interagit avec la voie PI3K / AKT / mTOR en plusieurs points, l'inhibition d'une voie pouvant réguler à la hausse l'autre voie. La voie PI3K est physiologiquement impliquée dans l'homéostasie cellulaire. Il a été démontré que son activation est centrale dans différents types de cancer, y compris le mélanome où elle est la deuxième voie la plus fréquemment activée après l'activation de la voie des MAPK[33 34 35].

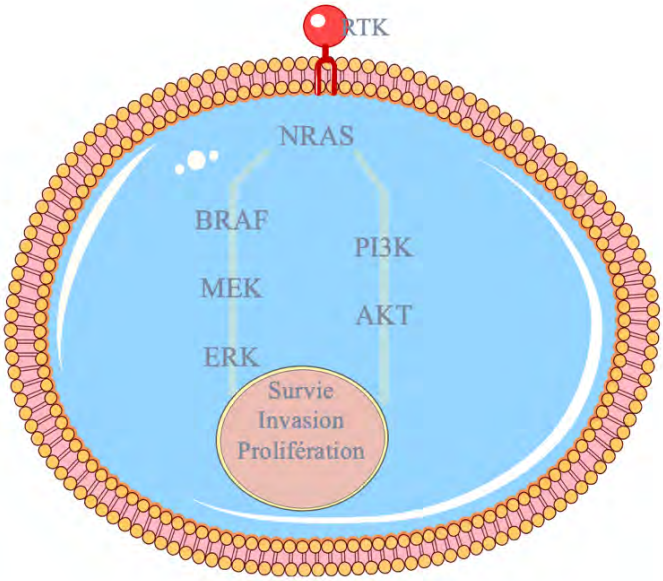


Figure 3. Activation physiologique de la cascade des signalisation voie des MAPK et PI3K.

Plus de 50% des mélanomes sont porteurs d'une mutation activatrice sur l'oncogène BRAF[36] : 80 à 90 % de mutations $BRAF^{V600E}$ (substitution d'une valine en acide glutamique), 5 à 12 % $BRAF^{V600K}$ (substitution d'une valine en lysine). Les autres mutations sont moins fréquentes : 15 à 30 % de mutations NRAS, 10 à 15 % de mutations pour NF1 et moins de 10% de mutations pour KIT[24 37 38]. Ces mutations ont pour conséquence l'activation permanente et non régulée de la voie des MAPK sans qu'aucun signal activateur extrinsèque ne soit nécessaire en amont[39] (*figure 4)*.

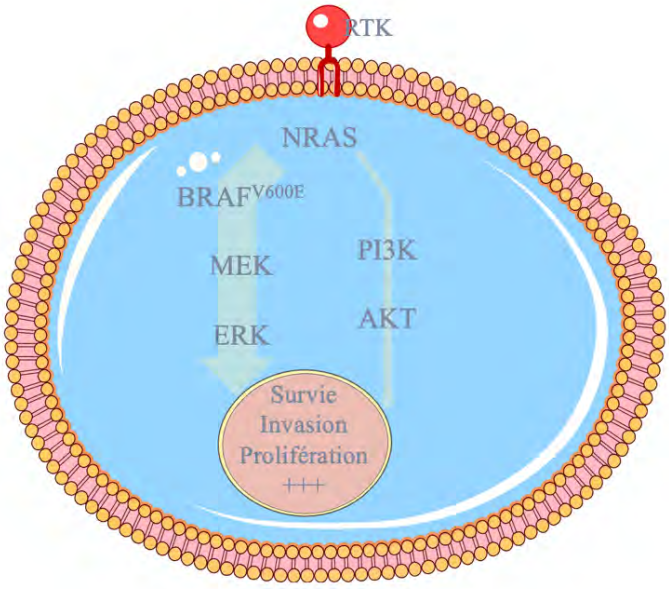


Figure 4. Effet de la mutation BRAF ^{V600E} sur l'activation de la voie des MAPK et la survie, l'invasion et la prolifération cellulaire.

Mutation de TP53 et MDM4

Un autre exemple de mutagènese induite par les UV dans le développement du mélanome ou d'autres cancers humains est la mutation *TP53*[40]. Le gène *TP53* est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans le développement de nombreux cancers humains et qui joue un rôle majeur dans la réponse au stress. Il code pour la protéine p53, un facteur de transcription qui contrôle l'expression de nombreux gènes impliqués dans l'apoptose et l'inhibition de la progression des cellules dans le cycle cellulaire[41 42].

Les mutations TP53 se retrouvent dans environ 20% des mélanomes métastatiques, des études dans les mélanomes primaires ont révélé des fréquences de mutation plus faibles que celles rapportées pour les métastases de mélanome, ce qui indique que les mutations peuvent survenir au cours de la progression des mélanomes primaires vers un mélanome métastatique[43 44 28].

Mais il existe des moyens alternatifs pour surmonter la suppression tumorale médiée par p53 : Par exemple, MDM4 (une ubiquitine ligase qui facilite la dégradation par le protéasome de p53) est un régulateur négatif de p53 qui est régulé à la hausse dans environ 65% des mélanomes

humains. MDM4 favorise la survie du mélanome métastatique humain en étant un antagoniste de la fonction pro-apoptotique de p53. En effet, l'inhibition de l'interaction MDM4-p53 a restauré la fonction p53 dans les cellules de mélanome, entraînant une sensibilité accrue aux traitements[45].

Autres facteurs de risque génétiques

Les patients atteints de syndromes familiaux de cancer, présentent un risque plus élevé de développer un mélanome[17]. Environ 7 à 15% des cas de mélanome surviennent chez des patients ayant des antécédents familiaux de mélanome[46]. Les mélanomes familiaux peuvent survenir parce que les membres de la famille partagent les mêmes phénotypes[47 48]. Au cours des dernières années, des mélanomes ont été observés dans des familles généralement sujettes à des types spécifiques de tumeurs malignes[49]. Dans une méta-analyse[50], la présence ou les antécédents de lésions précancéreuses et cancéreuses confèrent un risque relatif (RR) de 4,28 (IC_{95} 2,80–6,55).

Des cas familiaux de mélanomes peuvent être liés à des facteurs génétiques comme *CDKN2A* (un gène suppresseur de tumeur) et *CDK4* (un oncogène), dont les mutations sont rares mais confèrent un risque si élevé de mélanome, que les porteurs développent des mélanomes multiples et/ou des formes familiales de mélanome[51 49 52].

Le mélanome est donc une maladie multifactorielle résultant d'une interaction entre des facteurs environnementaux et individuels.

Phototype

Le phototype est le phénotype en rapport avec la sensibilité de la peau au soleil. Cette sensibilité s’explique principalement par la différence de couleur de peau. Les personnes à la peau plus foncée sont moins à risque de développer un mélanome que les personnes à la peau

claire[9]. La différence de couleur s'explique par la qualité et la quantité de mélanine que ces cellules produisent. Chez les populations noires, les mélanosomes sont plus larges, leur contenu mélanique est 8 à 10 fois plus dense que chez les populations blanches[53]. De plus, il existe deux types de mélanine : l'eumélanine et la phéomélanine. Les personnes à peau naturellement plus foncée ont plus d'eumélanine et les personnes à peau naturellement claire ont plus de phéomélanine. Alors que l'eumélanine a la capacité de protéger la peau des dommages causés par le soleil, la phéomélanine ne le fait pas. A partir de ses caractéristiques sont définis différents phototypes selon la classification de Fitzpatrick[54].

- Phototype I : peau très blanche, cheveux blonds ou roux, yeux bleus/verts ; ne bronze jamais et ont très facilement des coups de soleil.
- Phototype II : peau claire, cheveux blonds, roux ou châtains, yeux verts/marrons ; bronze à peine et ont facilement des coups de soleil.
- Phototype III : peau moyennement claire, cheveux châtains ou bruns, yeux marrons ; bronze progressivement et ont occasionnellement des coups de soleil.
- Phototype IV : peau mate, cheveux bruns/noirs, yeux marrons/noirs ; bronze facilement et ont rarement des coups de soleil.
- Phototype V : peau très mate, cheveux noirs, yeux noirs ; bronze vite et beaucoup, ont très rarement des coups de soleil.
- Phototype VI : peau noire, cheveux noirs, yeux noirs ; n'ont jamais de coups de soleil.

Les individus de phototypes I et II sont plus exposés au risque de mélanome que les individus de phototype IV et V. En méta-analyse[55], le RR de développer un mélanome est en effet respectivement estimé à 2,09 (IC_{95} 1,67–2,58), 1,84 (IC_{95} 1,43–2,36) et 1,77 (IC_{95} 1,23–2,56) pour les individus de phototypes I, II et III en comparaison aux individus de phototype IV. Ce risque est majoré par la survenue de nombreux coups de soleil dans l'enfance.

Phénotype nævique

La capacité à générer des *nævi* et potentiellement développer un mélanome se traduit par le phénotype nævique caractérisé par le nombre, la taille et l'aspect des *nævi*[56] [57]. En comparaison aux individus ayant moins de 15 *nævus*, un grand nombre de nævus communs confère un RR de :

- 1,5 pour les individus ayant 16 à 40 nævus
- 7 pour les individus ayant 101 à 120 nævus
- 10 chez les individus ayant au moins 5 nævus atypiques[50]

L'existence de *nævus* atypiques est corrélée à une augmentation du risque de mélanome[58]. Le syndrome du *nævus* atypique se définit comme un grand nombre de nævus (plus de 50), de grande taille (plus de 6 mm de diamètre)[59], ayant des aspects atypiques (bords irréguliers, couleur inhomogène, bordures indistinctes) et siégeant en peau non exposée au soleil.

Pour conclure l'identification des sujets à risque de développer un mélanome se fait alors selon les critères présentés ci-dessous. Reprenant une large littérature depuis 15 ans, une méta-analyse[60] [55] [61] définit les sujets à risque de mélanome comme les individus ayant des :

- Antécédents familiaux de mélanome (RR 1,74 ; IC_{95} 1,41–2,14)
- Antécédents personnels de mélanome (5 à 8 % de développer un second mélanome)
- Peau claire (RR 2,0 ; IC_{95}1,68–2,52), des yeux bleus (RR 1,47 ; IC_{95}1,28–1,69) et des cheveux de couleur claire, en particulier avec des éphélides multiples (RR 2,10 ; IC_{95}1,80–2,45) et des cheveux roux (RR 3,64 ; IC_{95} 2,56–5,37)
- Nombre élevé de *nævus* RR 6,89 (IC_{95} 4,63–10,25) chez les sujets porteurs d'un grand nombre de *nævus*[62] en comparaison aux individus ayant moins de 15 nævus
- Nombre élevé de nævus de grande taille[62]

- Un nombre élevé de *nævus* atypiques : les sujets porteurs de plus de cinq *nævus* atypiques (RR 6,36 ; IC_{95}3,80–10,33) par rapport à ceux qui n'en ont aucun.
- Syndrome des *nævi* atypiques [58]
- Antécédents d'expositions solaires intenses avec coups de soleil.

Plus les facteurs s'accumulent, plus le risque est élevé. Des variables telles que le phototype, les facteurs génétiques et les lésions solaires ont été montrées pour augmenter davantage le risque de maladie chez les porteurs de mutations. Lorsque plusieurs gènes de prédisposition sont associés entre eux et à des facteurs environnementaux, le risque individuel est élevé.

Croissance tumorale

À la suite de l'acquisition de ces mutations, la cellule devient tumorale, la première phase de développement du mélanome s'effectue en surface, au niveau de l'épiderme. C'est le mélanome *in situ* à croissance radiale[18].

La deuxième phase de croissance est verticale, permettant aux cellules de mélanome de franchir la lame basale et d'atteindre le derme. Le mélanome est dit invasif à croissance verticale. Des cellules cancéreuses peuvent alors atteindre des vaisseaux sanguins et lymphatiques et métastaser jusqu'aux organes receveurs tels que les ganglions lymphatiques puis les viscères pour constituer des métastases touchant principalement les poumons, le cerveau, le foie et les os.

Évolution naturelle de la maladie

Facteurs pronostiques

Après le diagnostic permettant l'identification des caractéristiques mélaniques et de réaliser une classification, il est possible de définir certains critères nous donnant une indication sur l'évolution de la maladie. La présence de ces critères sont des facteurs péjoratifs : le risque de récidive semble plus élevé et la survie sans récidive plus courte. Ce sont principalement des critères histologiques, tels que :

- L'épaisseur tumorale (indice de Breslow) : marqueur pronostique indépendant le plus puissant et il existe une corrélation quasi linéaire entre épaisseur et mortalité.
- L'ulcération (clinique ou histopathologique)
- L'index mitotique (comptage des cellules en cours de mitoses)
- Le niveau d'invasion (niveau de Clark)
- L'état du ganglion sentinelle.
- Le nombre de ganglions métastatiques parmi les ganglions prélevés dans l'évidement ganglionnaire.
- La régression tumorale (réduction de la taille d'une tumeur ou de l'étendue de l'atteinte cancéreuse) qui entraine une sous-estimation de l'indice de Breslow

De plus, d'autres facteurs entrent en considération dans l'élaboration d'un mauvais pronostique comme le sexe masculin et l'âge avancé ou encore certaines topographies : tronc, tête et cou[63].

Risque évolutif

Le malade atteint de mélanome est exposé au risque d'évolution ou de récidive de sa maladie. La survenue d'une première métastase est d'autant plus précoce que la tumeur est épaisse avec une probabilité de décès maximale entre la deuxième et la troisième année post-opératoire.

Au stade localisé, la mélanome *in situ* a une guérison pratiquement assurée par l'exérèse. Au stade ganglionnaire régional, le pronostic varie fortement en fonction du nombre de ganglions envahis, du caractère micro- ou macroscopique de l'atteinte, et de l'existence, ou non, d'une ulcération de la tumeur primitive.

On estime que les premières métastases peuvent être viscérales dans 18 à 27 % des cas. Les patients avec LDH normale et métastases à distance cutanées ou ganglionnaires, sans atteinte viscérale (stade M1a), ou avec une atteinte viscérale limitée au poumon (stade M1b), ont en règle générale une survie plus longue[64].

Au stade disséminé à distance, le pronostic est plus mauvais. Les patients qui développent rapidement de multiples métastases viscérales avec élévation de la LDH sérique ont une survie plus courte avec une variation en fonction de la prise en charge thérapeutique[64].

PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DU MELANOME

Le risque évolutif et le pronostic du mélanome ont été améliorés ces dernières années grâce à des efforts faits dans la compréhension de la biologie cellulaire, des voies de signalisation intracellulaire, ainsi que du rôle de l'immunité. Il en résulte l'apparition de thérapies novatrices, très prometteuses, permettant d'allonger la survie globale des patients atteints de mélanome métastasique. Lorsque le diagnostic du mélanome est posé, la première étape du traitement est l'exérèse chirurgicale, puis en fonction du stade du mélanome, différentes classes thérapeutiques peuvent être proposées comme décrit dans la *figure 5* [65].

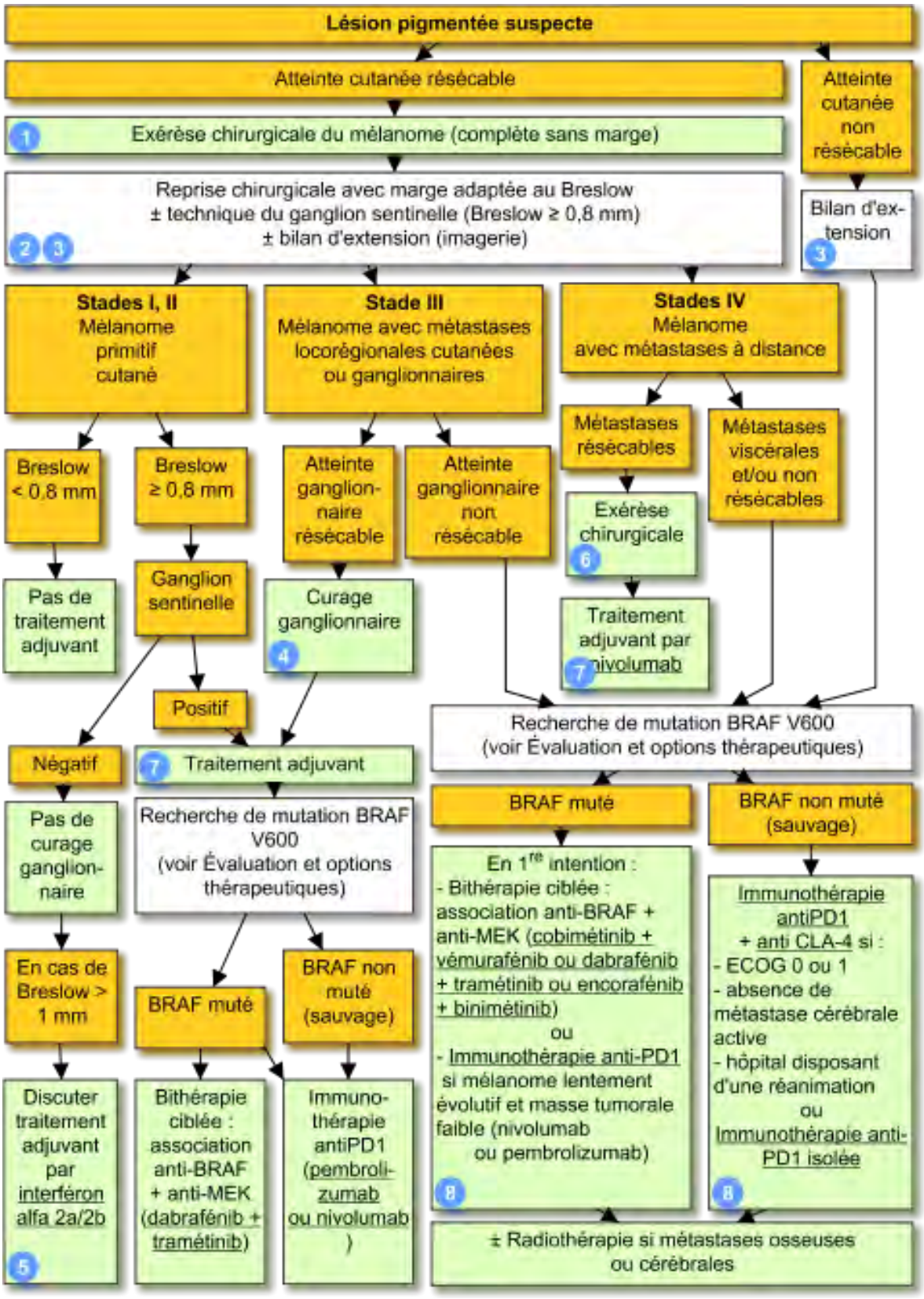


Figure 5. Arbre décisionnel de prise en charge thérapeutique du mélanome

Extrait du Vidal[65]

Traitement chirurgical

La majorité des patients atteints d'un mélanome nouvellement diagnostiqué à une maladie à un stade précoce. Pour ces patients, l'excision chirurgicale représente le traitement de choix pour guérir le mélanome, lorsqu'il est localisé, en ôtant la tumeur. Elle est curative dans la majorité des cas[66]. L'exérèse initiale permet alors le diagnostic, précise l'épaisseur du mélanome et oriente la reprise chirurgicale autour de la cicatrice[65] (une intervention chirurgicale complémentaire retirant une zone plus large peut être nécessaire afin de s'assurer que toutes les cellules cancéreuses ont bien été retirées).

Pour les mélanomes dont le Breslow est supérieur à 1mm ou/et en présence d'ulcération l'exérèse du ganglion sentinelle (ganglion le plus proche de la tumeur) est proposée. En effet, il peut arriver que des cellules cancéreuses aient colonisé le ganglion sentinelle. On procède alors à son ablation afin de déterminer la présence, ou non, de cellules cancéreuses. Quand il y a une suspicion de propagation à d'autres ganglions au-delà du ganglion sentinelle, l'exérèse de l'ensemble des ganglions situés à proximité de la tumeur est réalisée[67]. Cependant , l'exérèse du ganglion sentinelle est proposée mais n'est, à l'heure actuelle, qu'une option dans les recommandations francaises[67] car il a été démontré que le statut du ganglion sentinelle n'est qu'un facteur pronostique et n'apporte pas de bénéfice en termes de survie[68] [69].

Malgré l'exérèse, certains patients rechuteront plus tard avec une maladie disséminée, et environ 10% des cas de mélanome sont diagnostiqués à un stade avancé et sont non résécables ou déjà métastatiques. Dans ce cas, il est nécessaire d'initier un traitement pharmacologique.

.

Traitement par chimiothérapie

Pendant plus de 30 ans, le traitement de référence des mélanomes de stades avancés a été la chimiothérapie[70]. Au fil des dernières décennies, différentes chimiothérapies ont été utilisés : la dacarbazine et son pro-médicament, le temozolomide, furent les plus largement employés. On considère que la dacarbazine est la chimiothérapie la plus efficace contre le mélanome métastatique[71]. L'effet antinéoplasique cytostatique est dû à une inhibition de la croissance cellulaire et à une inhibition de la synthèse de l'ADN[65].

Plusieurs antinéoplasiques ont été étudiés, parfois en monothérapie, parfois en combinaison. Malheureusement, aucune étude clinique de phase III n'est parvenue à démontrer une amélioration de la survie globale, et ce, pour aucun régime de chimiothérapie[72 73].

Le taux de réponse de la dacarbazine varie entre 8 et 20 %. La plus grosse étude de phase III menée sur la dacarbazine dans le traitement du mélanome métastatique a révélé des résultats encore moins reluisants : les patients ayant reçu la dacarbazine à raison de 1000 mg/m^2 par voie intraveineuse tous les 21 jours ont démontré un taux de réponse objective de 7,5 %[74]. La survie médiane des patients n'était que de 6 à 9 mois[75 76]. D'autres études rapportent une survie sans progression de l'ordre de 1,5 à 2 mois[75]. Ces valeurs soulignent le manque d'efficacité de la dacarbazine. Pourtant, faute de meilleurs traitements, ces résultats ont suffi à positionner durant des dizaines d'années la dacarbazine comme le traitement de première ligne du mélanome.

Depuis 2011, les options thérapeutiques ont évolué avec l'AMM de 8 nouveaux traitements. Cette révolution est liée au développement de deux nouvelles stratégies thérapeutiques : d'une part, la thérapie ciblée pour les patients dont le mélanome d'une mutation BRAF^{V600E} et, d'autre part, les immunothérapies. La chimiothérapie classique est donc désormais utilisée après échec des autres ou bien lorsque ces traitements sont contre-indiqués.

Traitement par thérapie ciblée

La possibilité d'offrir une médecine personnalisée avec des thérapies basées sur le profil moléculaire de la tumeur est un objectif en oncologie moderne. La compréhension approfondie de l'hétérogénéité génétique du mélanome, la détection de mutations oncogéniques et la capacité de les cibler, ont permis le développement de nouvelles options thérapeutiques.

Pour rappel, la mutation de $BRAF^{V600E}$ est l'altération génétique la plus fréquente des mélanomes, faisant de BRAF une cible thérapeutique privilégiée. Parmi ces traitements, les inhibiteurs sélectifs de BRAF (dabrafénib, vemurafénib) ou des inhibiteurs sélectifs de MEK (trametinib, cobimétinib) bloquent la croissance des cellules de mélanome porteuses de la mutation $BRAF^{V600E}$ *(figure 6)*. Ces molécules ont révolutionné le traitement du mélanome et ont permis de prolonger de manière importante la survie globale des patients[36].

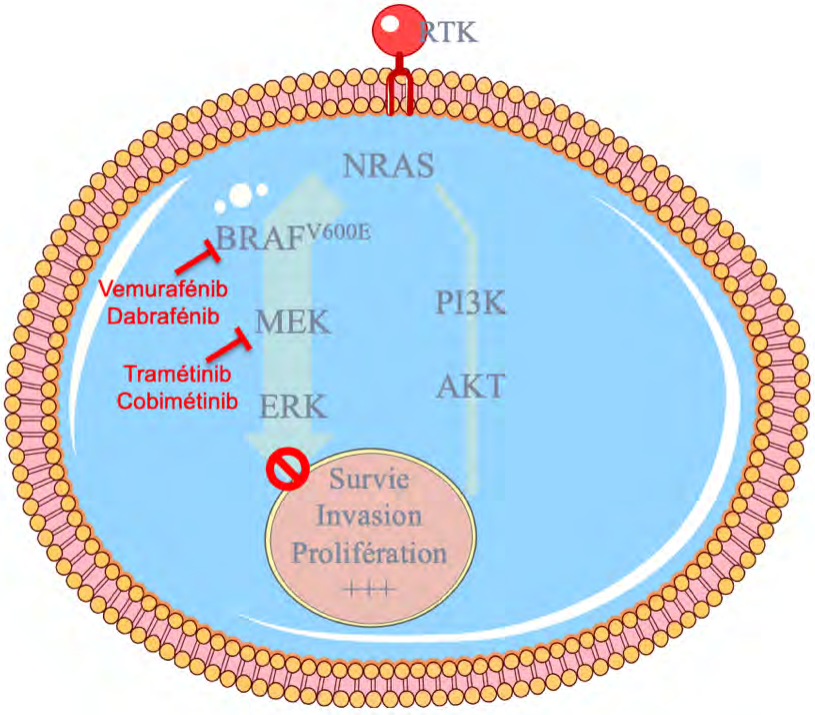


Figure 6. Traitement ciblant la voie des MAPK dans le mélanome métastatique.

Les inhibiteurs sélectifs de BRAF

Le vemurafénib est le premier inhibiteur sélectif de $BRAF^{V600E}$ à avoir obtenu une AMM en 2012, rapidement suivi par le dabrafénib. Ces molécules inhibent la forme activée de $BRAF^{V600E}$, ce qui réprime la prolifération des cellules tumorales exprimant les protéines de la mutation $BRAF^{V600E}$ comparativement à l'activité initiale. Ils sont indiqués en monothérapie dans le traitement du mélanome non résécable ou métastatique à mutation $BRAF^{V600E}$ [77].

Ces deux molécules ont montré des bénéfices cliniques très similaires, qui n'avaient jamais été observés dans le mélanome métastatique[78]. L'étude de phase III BRIM2[79] est une étude multicentrique dans laquelle 675 patients qui étaient répartis aléatoirement recevaient soit du vemurafénib dosé à 960 mg par voie orale deux fois par jour ou de la dacarbazine à 1000 mg/m^2 par voie intraveineuse toutes les trois semaines. Le taux de réponse objective (selon critères RECIST50) était de 48% (contre 5% pour la dacarbazine), une survie sans progression médiane de 5,3 mois (contre 1,6 mois) et survie globale médiane de 13,3 (contre 10,0 mois).

Les inhibiteurs sélectifs de MEK

En raison de l'efficacité des inhibiteurs de BRAF et de la logique que la signalisation de BRAF dépend de l'activation en aval de MEK, le développement d'inhibiteurs de MEK est devenu une priorité. De plus, l'étude des mécanismes de résistance à la monothérapie par inhibiteur de BRAF ainsi qu'une meilleure compréhension du fonctionnement de la voie des MAPK ont permis d'identifier le rôle fondamental de MEK au cours de la résistance aux inhibiteurs de BRAF, et la synergie potentielle entre inhibiteurs de BRAF et inhibiteurs de MEK[80].

Le tramétinib a été le premier inhibiteur de MEK à obtenir l'approbation réglementaire pour une utilisation en monothérapie. Les inhibiteurs de MEK sont des inhibiteurs allostériques, réversibles et hautement sélectifs qui bloquent la voie des MAPK en ciblant MEK1 et MEK2,

conduisant à une inhibition de la phosphorylation de ERK. Par conséquence, ils bloquent la prolifération de lignées cellulaires de mélanome exprimant la mutation $BRAF^{V600E}$ [65].

Dans l'essai METRIC de phase III, le tramétinib était associé à un réponse objective de 22% et à une survie sans progression médiane de 4,8 mois [81].

Association inhibiteur BRAF et inhibiteur MEK

Une étude randomisée de phase I/II sur le dabrafénib en association avec le trametinib a montré un réponse objective de 76% (contre 54% contre dabrafénib seul), une survie sans progression médiane de 9,4 (contre 5,8 mois) et une survie globale médiane de 27,4 mois (contre 20,2 mois) chez les patients atteints de mélanome[82] [83]. Les études de phase II, puis de phase III, ont ensuite montré que l'association d'un inhibiteur de BRAF et d'un inhibiteur de MEK était plus efficace que la monothérapie par inhibiteur de BRAF. Ainsi, les réponse objective sont de 76% pour l'association (contre 54% pour la monothérapie), la survie sans progression de 12 mois (contre 8,8 mois) et la survie globale médiane de 25 mois (contre 18 mois)[84].

Grâce à ces données, la thérapie combinée de l'inhibiteur BRAF et de l'inhibiteur MEK est devenue le traitement standard ciblé pour le mélanome muté BRAF, sauf contre-indication et intolérances aux effets indésirables[85] [86].

Résistance

Le mélanome présente une forte capacité d'adaptation et la résistance à ces nouveaux inhibiteurs survient presque systématiquement, en effet s'il existe de rares patients longs répondeurs à ces inhibiteurs de la voie des MAPK, la plupart développent un échappement thérapeutique après quelques mois de traitement.

Par exemple, le vemurafénib possède un taux de réponse initiale impressionnant d'environ 60 à 80 %. Malheureusement, la progression de la maladie survient généralement après sept mois, résultat d'une résistance acquise[87] [88]. Dans l'étude de phase II BRIM2, des échantillons de tissus ont été recueillis et analysés pour comprendre les mécanismes de cette résistance[89]. Presque tous les échantillons analysés ont démontré une réactivation de la voie de signalisation MAPK associée à une augmentation du pERK au moment de la résistance. Il peut s'agir d'une résistance intrinsèque ou acquise. Dans ces cas, ou dans le cadre de mélanome sans mutation BRAF, une autre classe thérapeutique peut être utilisée : **les immunothérapies basées sur les anticorps neutralisant les immune-checkpoints.**

Traitement par immunothérapie basée sur les anticorps neutralisant les immune-checkpoints

Le système immunitaire joue un rôle primordial dans le contrôle des cancers. La présence d'une réponse immune adaptative spécifique ciblant un antigène tumoral suggère que le système immunitaire contrôle et élimine le développement de cellules tumorales naissantes. Pour qu'une réponse immunitaire anticancéreuse mène à une destruction efficace des cellules cancéreuses, une série d'événements par étapes doit être initiée et effectuée. Cependant, certaines cellules cancéreuses réussissent à échapper à ce système d'immunosurveillance[90]. Le but de l'immunothérapie anticancéreuse est d'initier ou de relancer ce cycle auto-entretenu d'immunité anticancéreuse, lui permettant d'amplifier et de se propager.

L'immunothérapie ciblant les points de contrôle du système immunitaire (ou anglicisme immune check point) comme **CTLA-4** (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) et **PD-1** (programmed cell death 1) révolutionne le traitement du mélanome permettant des réponses durables. Toutefois, la majorité des patients développent des effets indésirables d'auto-

inflammation voire d'auto-immunité exacerbés et indésirables. Pour comprendre ces phénomènes, nous allons évoquer dans la partie suivante les mecanismes d'action du système immunitaire dans le contexte du cancer et l'exploitation du système immunitaire comme une thérapie anti-cancéreuse.

ROLE DU SYSTEME IMMUNITAIRE DANS LA LUTTE CONTRE LE CANCER

L'immunothérapie est une approche thérapeutique qui agit sur le système immunitaire d'un patient pour lutter contre sa maladie. Elle a connu un essor en cancérologie au cours des dix dernières années, en raison de l'amélioration des connaissances fondamentales sur l'immunologie du cancer. En effet, cette maladie n'est plus considérée du seul point de vue de la tumeur, mais comme une maladie du microenvironnement tumoral et du système immunitaire. C'est en manipulant ces derniers que les cellules tumorales prolifèrent et disséminent dans l'organisme hors de tout contrôle. Et c'est en comprenant comment elles y parviennent que de nouvelles solutions thérapeutiques ont vu le jour.

L'immunothérapie des cancers a pour but de stimuler le système immunitaire et de l'éduquer pour qu'il élimine les cellules cancéreuses en développant une immunité protectrice capable de reconnaître les cellules cancéreuses comme cellules indésirables et dangereuses pour l'organisme.

D'une manière générale, le rôle du système immunitaire est de reconnaître et de tolérer le soi, d'identifier et d'éliminer le non soi comme les micro-organismes infectieux (bactéries, virus, champignons) et le soi modifié comme les cellules cancéreuses. Il existe deux types de réponse immunitaire.

La réponse non spécifique, qui constitue l'immunité innée, agit en ne tenant pas compte du type de maladie qu'elle combat. Elle constitue la première ligne de défense face à une infection. Plusieurs types de mécanismes interviennent au cours de cette réponse : les barrières physiques telles que la peau et les muqueuses ; l'inflammation ; les cellules de

l'immunité innée, entre autres les macrophages et les neutrophiles qui réalisent la phagocytose (destruction des corps étrangers de manière non spécifique) ; le complément.

La réponse immunitaire acquise qui repose sur les lymphocytes T (LT) et les lymphocytes B (LB) est la cible principale des immunothérapies, nous nous limiterons à la présentation des acteurs de cette composante du système immunitaire.

Les acteurs de l'immunité

L'immunité acquise repose, entre autres, sur les LB acteurs clefs de la réponse immunitaire à médiation humorale, et les LT impliqués à la fois dans l'établissement des réponses immunitaires humorales et cellulaires.

Lymphocyte B

Les LB possèdent à leur surface des récepteurs nommés BCR (B Cell Receptor) pouvant reconnaître l'épitope B d'un antigène. Consécutivement à la stimulation antigénique, les LB stimulés se différencient LB mémoires ou en plasmocytes qui sécrètent les anticorps dirigés contre l'antigène.

Anticorps ou immunoglobulines

Les anticorps sont constitués de deux chaînes lourdes associées à deux chaînes légères kappa ou lambda. On distingue deux types de fragment, les fragments de liaison à l'antigène Fab (Fragment antigen binding) et les fragments constants Fc, capables d'activer le complément et les récepteurs au fragment Fc. Il existe 5 classes d'anticorps : les IgM, les IgG, les IgA, les IgE et les IgD. Les IgM sont les premiers anticorps à être produits lorsque le corps reconnaît un nouvel antigène. Les IgG sont les plus abondants.

Les quatre fonctions principales des anticorps sont :

- La neutralisation d'antigènes, permettant d'empêcher les agents pathogènes de se lier aux cellules de l'hôte.
- L'opsonisation, qui consiste à recouvrir des agents pathogènes pour qu'ils soient phagocytés et détruits par les macrophages. Cette reconnaissance se fait par l'intermédiaire des récepteurs au fragment Fc exprimés à la surface des macrophages.
- L'activation du complément
- La cytotoxicité dépendante des anticorps ou ADCC (*Antibody-Dependent Cell Cytotoxycity*). Les cellules cibles, recouvertes d'anticorps, sont tuées par la libération de molécules toxiques produites consécutivement à l'engagement des récepteurs au fragment Fc, exprimés par des cellules tueuses comme les lymphocytes NK.

Le complexe majeur d'histocompatibilité

Les molécules du CMH, ou molécules HLA (Human Leukocyte Antigens) chez l'Homme, sont codées par des gènes polymorphes et représentent une véritable carte d'identité moléculaire des individus. Il existe deux types de molécule de CMH (i) le CMH de type I, qui est exprimé à la surface de presque toutes les cellules de l'organisme ; (ii) le CMH de type II qui est exprimé sur les cellules dendritiques (capacité de phagocytose et de présentation antigénique aux LT par CHM), les macrophages et les LB.

Lymphocyte T

Les LT jouent un rôle fondamental dans la réponse immunitaire adaptative, dans laquelle chaque LT apprend, mémorise et est spécifique d'un antigène particulier. Dans le contexte de la réponse immunitaire anti-tumorale, les LT reconnaissent des antigènes du soi modifié ou du soi surexprimé des cellules cancéreuses. Cette reconnaissance se fait grâce au TCR (T Cell

Receptor) qui interagit spécifiquement avec des épitopes T présentés par les molécules du CMH.

On distingue différents types de LT :

- LT CD4+

Le CD4 est une protéine monomérique membranaire présentant 4 domaines immunoglobuline-like et associé au TCR. Le CD4 est exprimé par les LT CD4+ et joue un rôle dans le renfort de l'interaction entre les TCR des LT et les CMH II présentent à la surface des cellules présentatrices d'antigène (CPA). Cette interaction active les LT CD4. Les LT CD4 libèrent des cytokines modulatrices de la réponse immunitaire à médiation cellulaire et humorale et deviennent donc des LT helper (ou auxiliaires).

On distingue les LT CD4+ comme (i) les T régulateurs (Tregs) producteurs de TGFβ et d'IL10 ; (ii) les Th1 producteurs d'IFNγ et de TNF ; (iii) les Th2 producteurs d'IL-4. Tandis que les Th1 facilitent l'activité cytotoxiques des LT CD8+ contre les cellules tumorales, les Th2 et les Treg l'inhibent.

- **LT CD8+**

Le CD8 est une protéine hétérodimérique membranaire associé au TCR. Le CD8 est exprimé par les LT CD8+ et joue un rôle dans le renfort de l'interaction entre le LT et la cellule cible exprimant le CMH I, ainsi que dans la transmission du signal aux LT. La liaison de CD8 sur la molécule de CMH I stabilise le complexe CMH-peptide/TCR et facilite l'activation du LT CD8+. Une fois activé, le LT cytotoxique libère des protéines, comme la perforine et les granzymes. La perforine est protéine cytolytique capable d'induire la lyse cellulaire, elle s'insère dans la membrane plasmique des cellules cibles et induit la formation de pores qui facilitent l'entrée des granzymes, des protéases qui entraînent la mort des cellules indésirables comme les cellules cancéreuses.

Les LT CD8 naïfs évoluent en LT CD8 cytotoxiques.

Mécanisme d'immunité anti-tumorale

Phase initiatrice

La réaction immunitaire implique en premier lieu la libération des antigènes par les cellules cancéreuses : le cancer est caractérisé par l'accumulation d'un nombre variable d'altérations génétiques et la perte de processus normaux de régulation cellulaire. Ces événements entrainent l'expression d'antigènes, dont des néoantigènes pouvant provenir de lysats, de fragments ou de corps apoptotiques de cellules tumorales qui seront capturés par les CPA. Les CPA sont des cellules sentinelles, disséminées dans la plupart des tissus, elles internalisent les antigènes exogènes, puis migrent ensuite, sous l'influence de différents facteurs (chimiokines produites dans un contexte inflammatoire) jusqu'aux organes lymphoïdes secondaires comme les ganglions lymphatiques.

L'antigène présenté par les CMH est reconnu par des LT spécifiques de cet antigène. Ces LT ne seront activés que si le premier signal, reconnaissance du complexe CMH-peptide par le TCR, est accompagné de signaux dits de co-stimulation. Parmi ces signaux de co-stimulation, l'engagement de CD28 des LT naïfs à ses ligands B7.1 (CD80) ou B7.2 (CD86) des CPA, permet l'activation du LT, sa prolifération puis sa différenciation en LT effecteurs/mémoires. Cette étape est à l'origine de l'amorçage et de l'activation des réponses des LT spécifiques contre les antigènes des cellules cancéreuses[91]. Cela entraine l'expansion des LT CD8+ cytotoxiques spécifiques, favorisée par les Th1, les NK et les macrophages[92].

A l'opposé, la réponse immunitaire est freinée par les Treg et d'autres populations immunosuppressives comme les Myeloid-Derived Suppressor Cells (**MDSC**)[93]. Les MDSC sont des cellules myéloïdes immatures capables d'inhiber les fonctions des LT. Elles s'accumulent au cours de la croissance tumorale et contribuent au développement du cancer.

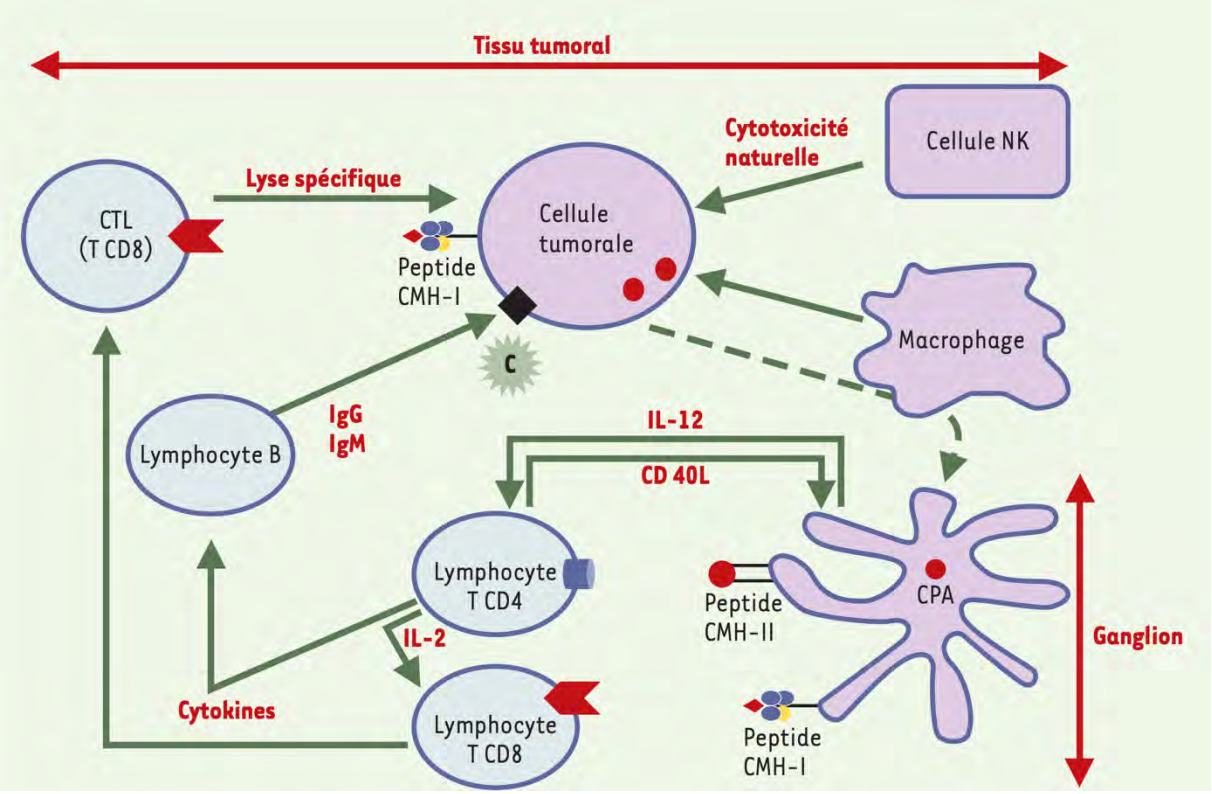


Figure 7. Contrôle des cellules tumorales par le système immunitaire.

Les cellules présentatrices d'antigène (CPA) déclenchent la réponse immunitaire spécifique dans les aires T des ganglions lymphatiques. Les cellules tumorales exposent des peptides associés à des molécules HLA de classe I à leur surface. La reconnaissance de ces antigènes par des lymphocytes T CD8 spécifiques entraîne leur lyse. Les macrophages sont des cellules spécialisées dans la phagocytose, mais possèdent également, comme les cellules NK, une capacité cytotoxique naturelle. Dans un contexte « cytokinique » favorable, des lymphocytes B peuvent sécréter des anticorps capables de reconnaître les cellules tumorales et les lyser en présence de complément (ou par des mécanismes d'ADCC, antibody-dependent cellular cytotoxicity).
Extrait de [94]

Phase effectrice

Après leur activation dans les ganglions lymphatiques par les CPA, les LT parviennent ensuite dans le microenvironnement tumoral et éliminent spécifiquement les cellules tumorales qui présente l'antigène par des LT cytotoxiques activés. La lyse de la cellule cible se réalise par un mécanisme de cytotoxicité dépendante principalement de la perforine et des granzymes. La mort des cellules cancéreuses est associée à une libération des antigènes tumoraux supplémentaires, permettant d'amplifier la réponse immunitaire[93] *(figure 8)*.

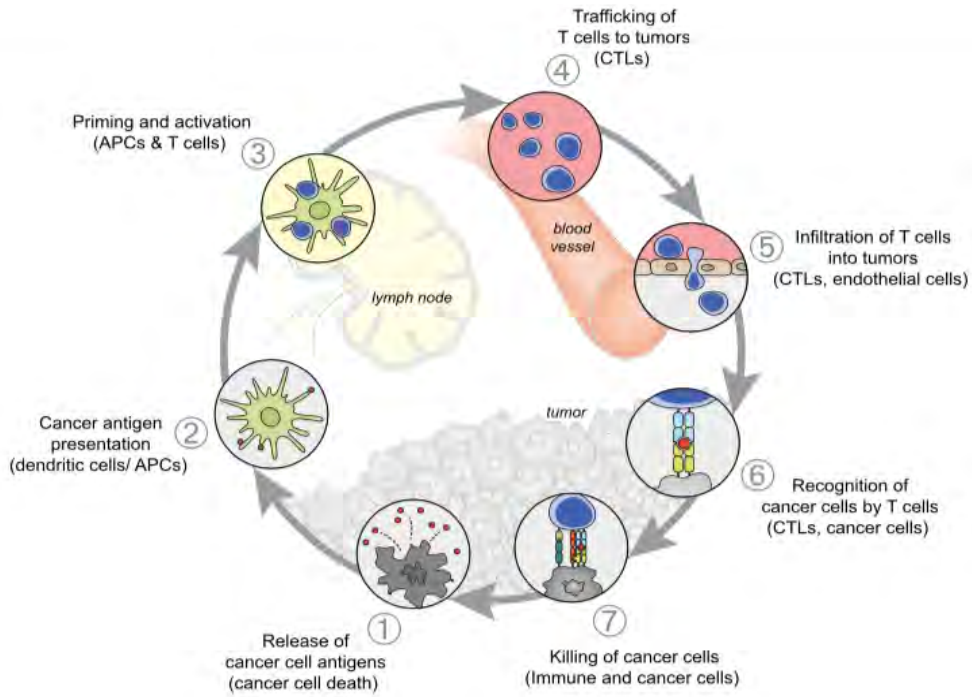


Figure 8. Cycle d'amplification de la réponse immunitaire anti-tumorale

La génération d'une immunité contre le cancer est un processus cyclique qui peut s'auto-propager, conduisant à une accumulation de facteurs immunostimulateurs qui amplifient les réponses des LT. Le cycle peut être divisé en sept étapes majeures, commençant par la libération d'antigènes de la cellule cancéreuse et se terminant par la destruction des cellules cancéreuses. Chaque étape est décrite ci-dessus, avec les types de cellules primaires impliqués et la localisation anatomique de l'activité répertoriée. Les abréviations sont les suivantes: APC, cellules présentant l'antigène; CTL, lymphocytes T cytotoxiques.
Extrait de [95]

Échappement au système immunitaire

Nous savons que les cellules cancéreuses présentent de profonds remaniements génétiques qui leur permettent d'acquérir leurs propriétés malignes. Ainsi, elles expriment à leur surface des antigènes tumoraux spécifiques qui les différencient des cellules saines et sont capables d'induire des réactions immunitaires. Néanmoins, au fur et à mesure que la maladie progresse, les cellules cancéreuses se dédifférencient et s'adaptent à leur environnement pour l'exploiter à leur avantage et poursuivre leur multiplication. Ainsi, certains antigènes tumoraux immunogènes cessent d'être exprimés : ce phénomène permet aux cellules tumorales d'échapper à la surveillance du système immunitaire. De plus, les cellules cancéreuses, ou les cellules du microenvironnement tumoral peuvent sécréter des cytokines immunosuppressives

comme le TGFβ et exprimer à leur surface les ligands tels que CTLA-4, PD-L1 et PD-L2 (ligands de PD-1) qui constituent un véritable frein à l'activation immunitaire. Ainsi, le microenvironnement tumoral devient immunosuppresseur : il peut empêcher l'arrivée sur place des LT, ou leur action.

L'immunothérapie redonne au système immunitaire les moyens de réactiver la réponse immunitaire anticancéreuse. Les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires (ou anglicisme immune checkpoint inhibitor **ICI**) comme les anticorps bloquant CTLA-4 ou PD-1 évitent cette désactivation et augmentent la réponse immunitaire anti-tumorale de l'organisme. Nous allons nous pencher plus en détails sur ces deux voies de signalisation afin d'en comprendre leur potentiel thérapeutique.

L'axe CTLA-4/CD28

Il peut donc se produire un mécanisme d'inhibition de ce programme anti-tumoral, et l'un des coupables identifiés est le CTLA-4[96 97]. Le CTLA-4 est exprimé à la surface des LT, il va entrer en compétition avec CD28 pour se lier au le B7 (ou CD80/86) des CPA avec une plus haute affinité que le CD28. Cette interaction provoque un signal inhibiteur des LT[98] (*figure 9)*.

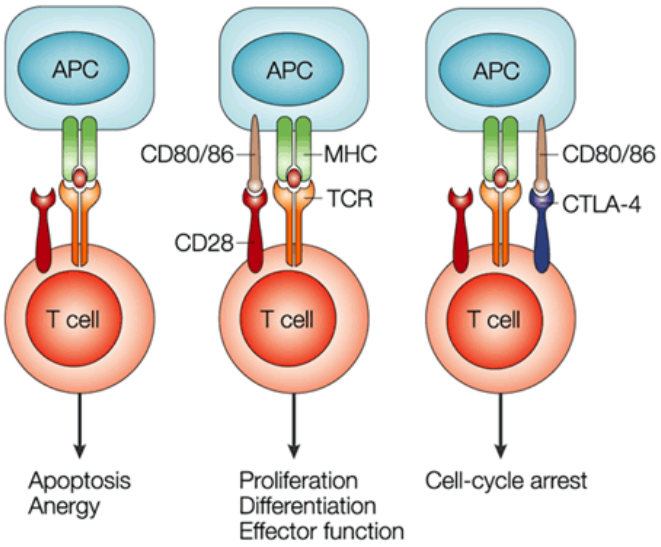


Figure 9. Compétition entre le CD28 et CTLA-4 pour la liaison au B7 des CPA. Le type de liaison défini le devenir du LT, apoptose anegie ; prolifération, différenciation ou fonction effectrices ; ou arrêt du cycle cellulaire. T cell : Lymphocyte T. APC : cellules présentatrices d'antigène

Extrait de [99]

De plus, le domaine intracellulaire de CTLA-4 et donc les seconds messagers que ce domaine contrôle sont impliqués dans l'interaction avec les phosphatases *Src homology 2 domain containing tyrosine phosphatase 1* et *2* (SHP-1 et SHP-2) et protein phosphatase 2A (PP2A)[100]. Cette signalisation va se traduire par une diminution de l'expression de l'IL-2 par le LT, à son anergie, voire à son apoptose (*figure 10)*.

En d'autres termes, la voie CTLA-4 est un système de freinage naturel de la prolifération, de la différenciation et de la fonction effectrice des LT cytotoxiques. En levant ce frein, on peut augmenter la réponse immunitaire des LT contre les cellules cancéreuses. C'est pourquoi il est intéressant de cibler cette voie pour le traitement du mélanome.

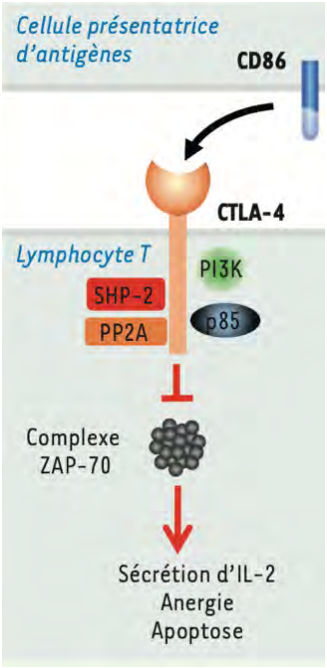


Figure 10. Signalisation du domaine intracellulaire de CTLA-4

CTLA-4 va moduler négativement la signalisation du TCR en recrutant la PI3K et les phosphatases SHP-2 et PP2A et limiter la formation des complexes Zap-70 et se traduire par une diminution de l'expression de l'IL-2 par le LT, à son anergie, voire à son apoptose.

Extrait de[101]

Ipilimumab

L'ipilimumab a été le premier ICI moderne à avoir été testé dans des essais cliniques. Il s'agit d'un anticorps humain de type IgG1 de haute affinité pour le récepteur CTLA-4 qui empêche sa liaison avec B7 (*figure 11)*. L'inhibiteur de CTLA-4, en bloquant l'interaction CTLA-4/B7, permet la liaison entre B7 et CD28 et améliore donc la prolifération et la différenciation des LT cytotoxiques spécifiques de l'antigène du mélanome[102]. Cela provoque une plus importante infiltration lymphocytaire dans les tissus tumoraux et, ultimement, conduit à la lyse tumorale.

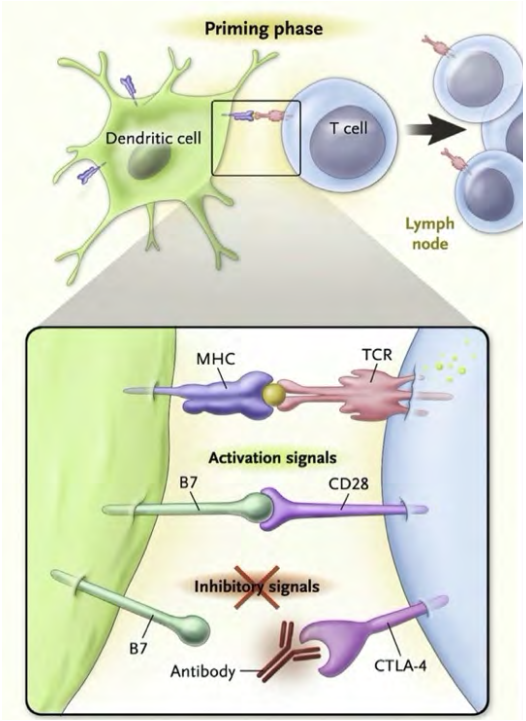


Figure 11. Rétablissement de la liaison entre le CD28 et B7 par inhibition du CTLA-4 par l'ipilimumab permet la restimulation du LT par la cellule dendritique (CPA)

Extrait de [99]

Des études de phase II ont montré des résultats intéressants en monothérapie en termes de survie et de contrôle de la maladie[103]. Dans l'essai de phase III de Hodi[104] les patients ont été randomisés en trois groupes. Au total, 676 patients atteints d'un mélanome non résécable de stade III ou IV, dont la maladie avait progressé pendant le traitement de la maladie métastatique, ont été assignés au hasard, dans un rapport de 3:1:1, pour recevoir :

- L'ipilimumab plus gp100 (403 patients)
- L'ipilimumab seul (137 pateints)
- Le vaccin glycoprotéine 100 (gp100) seul (136 patients).

L'ipilimumab, à une dose de 3 mg/kg de poids corporel, a été administré avec ou sans gp100 toutes les 3 semaines, jusqu'à quatre traitements.

La médiane de survie globale était de :

- 10,0 mois chez les patients recevant ipilimumab plus gp100, contre 6,4 mois chez les patients recevant gp100 seul (rapport de risque de décès, 0,68; P <0,001).
- 10,1 mois chez les patients recevant ipilimumab seul (rapport de risque de décès par rapport à la gp100 seule, 0,66; P = 0,003).
- Aucune différence n'a été détectée entre les groupes ipilimumab (rapport de risque avec ipilimumab plus gp100, 1,04; P = 0,76).

Les taux de survie à 1 et 2 ans étaient respectivement de :

- 43,6% et 21,6% (ipilimumab plus gp100)
- 45,6% et 23,5% (ipilimumab)
- 25,3% et 13,7% (gp100).

Le pourcentage le plus élevé de patients ayant une réponse objective (une maladie stable) était dans le groupe ipilimumab seul : ce groupe avait une meilleure réponse objective de 10,9% et un taux de contrôle de la maladie (réponse partielle, réponse complète ou maladie stable) de 28,5%. Dans le groupe ipilimumab seul, 9 patients sur 15 (60,0%) ont maintenu une réponse objective pendant au moins 2 ans, et dans le groupe ipilimumab plus gp100, 4 patients sur 23 (17,4 %) ont maintenu la réponse pendant au moins 2 ans. Aucun des patients du groupe gp100 seul ayant eu une réponse partielle n'a maintenu la réponse pendant 2 ans.

Les réponses à l'ipilimumab ont continué de s'améliorer au-delà de la semaine 24: dans le groupe ipilimumab plus gp100, 3 patients avec une progression de la maladie se sont améliorés vers une maladie stable, 3 avec une maladie stable ont amélioré leur réponse partielle et 1 avec une réponse partielle s'est amélioré vers une réponse complète ; dans le groupe ipilimumab seul, 2 patients avec une maladie stable sont passés à une réponse partielle et 3 avec une réponse partielle ont évolué vers une réponse complète.

L'ipilimumab, avec ou sans vaccin peptidique gp100, par rapport au gp100 seul, a significativement amélioré la survie globale des patients atteints d'un mélanome métastatique.

L'axe PD-1/PD-L1 PD-L2

Tout comme le CTLA-4, le récepteur PD-1 est exprimé au niveau des LT. Il possède deux ligands, le PD-L1 et le PD-L2 exprimés par des cellules tumorales, ou par des cellules du microenvironnement tumoral. La voie PD1/PD-L1 est souvent exploitée par les tumeurs dont les cellules expriment le ligand à leur surface pour échapper au système immunitaire.

La voie du PD-1 est un autre point de contrôle immunitaire négatif qui a la particularité d'agir plus tardivement dans le processus d'activation des LT, au niveau des tissus périphériques et du microenvironnement tumoral[98]. Alors que le CTLA-4 régule l'activation précoce du LT naïf dans le ganglion, le récepteur PD-1 freine l'activation du LT lors de sa phase effectrice au contact de la tumeur. Il lie PD-L1 ou PD-L2 et engendre un signal d'inhibition de la prolifération conduisant à l'épuisement des LT[105] (*figure 12)*.

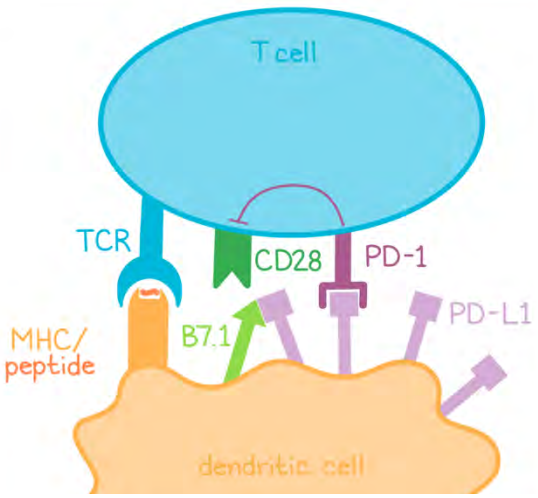


Figure 12. Inhibition de la signalisation activatrice des LT émanant du TCR et de CD28 et B7 par le PD-1

Extrait de [106]

Le domaine intracellulaire de PD-1 contient deux résidus tyrosine, l'un dans un domaine ITIM, l'autre dans un domaine ITSM. Ces motifs interagissent avec les protéines tyrosine phosphatases SHP-1, SHP-2 ou SAP[107], ce qui va conduire à la déphosphorylation de CD28 et d'autres protéines de la signalisation du TCR, diminuant fortement la capacité prolifération et les fonctions effectrices du LT.

En levant les freins du système immunitaire, on réactive donc une réponse immunitaire anti-tumorale qui était jusque-là inhibée.

Nivolumab et pembrolizumab

La deuxième génération d'ICI cible donc le récepteur PD1 ou l'un de ses ligands, PD-L1. L'efficacité des anti-PD-1 ou anti-PD-L1 repose ainsi sur la levée de l'inhibition que PD-1 exerce sur CD28 ou sur la signalisation du TCR. La voie de signalisation de CD28 et ou du TCR est alors à nouveau activée, avec une augmentation de la survie, de la prolifération et des fonctions cytotoxiques des LT[108].

Le nivolumab[109] et le permbrolizumab[110] sont des anticorps monoclonaux humain de type IgG4, qui se lient au récepteur PD-1 et bloquent l'interaction avec PD-L1 et PD-L2. Ils potentialisent les réponses des LT stimulant les réponses anti-tumorales. (*figure 12)*.

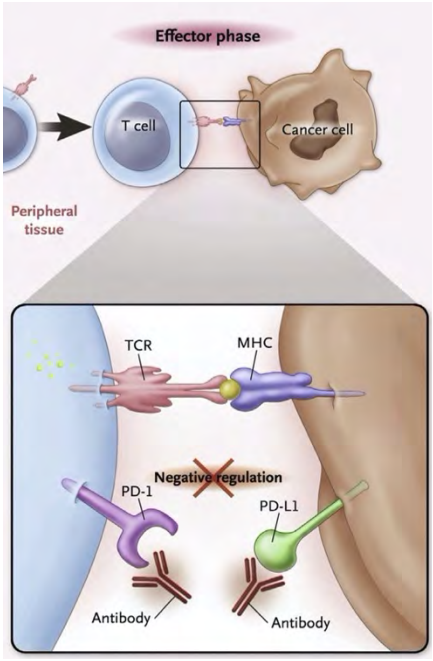


Figure 13. Rétablissement de la liaison entre le CD28 et B7 par inhibition du PD-1 ou PD-L1

Extrait de [99]

Peu de temps après l'émergence de l'ipilimumab, la thérapie anti-PD-1 apparait dans le paysage des essais cliniques. Ont été assignés à l'aveugle 418 patients précédemment non traités qui avaient un mélanome métastatique sans mutation BRAF pour recevoir[111] :

- Nivolumab à une dose de 3 mg/kg de poids corporel toutes les 2 semaines et un placebo assorti à la dacarbazine toutes les 3 semaines
- Dacarbazine à une dose de 1000 mg/m^2 de surface corporelle toutes les 3 semaines et placebo correspondant au nivolumab toutes les 2 semaines.

Après 1 an :

La survie globale était de 72,9% (IC_{95} 65,5-78,9) dans le groupe nivolumab, contre 42,1% (IC_{95} 33,0-50,9) dans le groupe dacarbazine.

La survie sans progression médiane était de 5,1 mois dans le groupe nivolumab versus 2,2 mois dans le groupe dacarbazine (RR au décès ou à la progression de la maladie, 0,43; IC à 95%, 0,34 à 0,56; p <0,001).

La réponse clinique objective était de 40,0% (IC_{95} 33,3-47,0) dans le groupe nivolumab contre 13,9% (IC_{95} 9,5-19,4) dans le groupe dacarbazine (p <0,001).

Le pembrolizumab, tout comme le nivolumab par rapport à la dacarbazine, permet un contrôle durable et améliore les taux de survie à long terme chez les patients atteints de mélanome avancé, quel que soit leur statut de mutation BRAF[112].

Thérapie combinée anti-PD-1 et anti-CTLA-4

Malgré les taux de réponse clinique objective et l'augmentation de survie observés avec les inhibiteurs anti-PD-1 et anti-CTLA-4 en monothérapie, une grande proportion de patients atteints de mélanome n'a pas survécu à leur maladie. Naturellement, l'intérêt de combiner ces thérapies a émergé puisque les mécanismes ciblés par ces deux types d'anticorps sont différents.

Une approche, combinant une thérapie anti-CTLA4 (ipilimumab) et anti-PD-1 (nivolumab), semble améliorer l'activité immunitaire chez les patients par rapport à l'une ou l'autre thérapie seule dans une étude de phase précoce[113]. L'anti-CTLA4 peut conduire à un amorçage et une activation améliorée des LT spécifiques de l'antigène de mélanome et le blocage de PD-L1 ou PD-1 peut supprimer l'inhibition de la destruction des cellules cancéreuses par les LT. En inhibant deux cibles qui affectent deux étapes du cycle d'immunité contre le cancer (*figure 14)*, des réponses rapides et profondes ont été observées chez des patients atteints de mélanome[113].

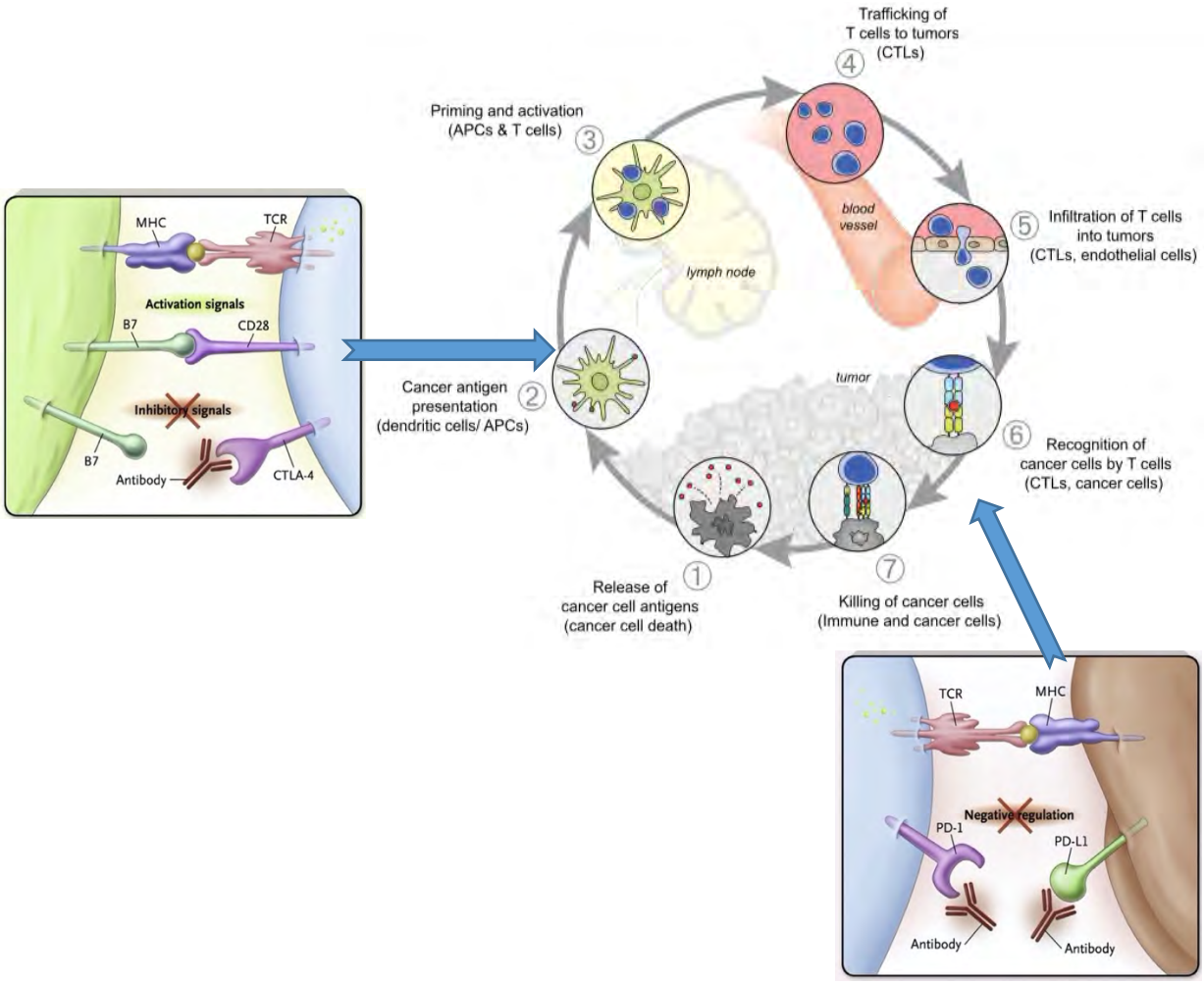


Figure 14. Action en deux points sur le cycle d'amplification de la réponse immunitaire anti-tumorale de la thérapie combinant anti-CTLA-4 et anti-PD-1

CheckMate-067[114] est une étude de phase 3, en double aveugle, randomisant 945 patients naïfs de traitement pour :

- Nivolumab 3 mg/kg toutes les 2 semaines.
- Nivolumab 1 mg/kg toutes les 3 semaines plus ipilimumab 3 mg/kg toutes les 3 semaines pour 4 doses (phase d'induction) puis Nivolumab 3 mg/kg toutes les 2 semaines (phase de maintenance)
- Ipilimumab 3 mg/kg toutes les 3 semaines pour 4 doses.

La randomisation a été stratifiée selon le statut PD-L1, le statut de mutation BRAF (31,5% BRAF muté) et le stade de métastase. Les deux critères d'évaluation principaux étaient survie

sans progression et la survie globale dans le groupe nivolumab plus ipilimumab et dans le groupe nivolumab par rapport au groupe ipilimumab.

La survie sans progression médiane était de :

- 6,9 mois (IC_{95}, 4,3-9,5) dans le groupe nivolumab
- 11,5 mois (IC_{95} 8,9-16,7) dans le groupe nivolumab plus ipilimumab
- 2,9 mois (IC_{95} 2,8-3,4) dans le groupe ipilimumab

Une survie sans progression médiane significativement plus longue a été observée dans le groupe nivolumab plus ipilimumab par rapport au groupe ipilimumab (IC_{99} : 0,31-0,57, p <0,001) et dans le groupe nivolumab par rapport au groupe ipilimumab (IC_{99} : 0,43-0,76, p <0,001).

La bithérapie semble bénéfique notamment chez les patients pour lesquels les tumeurs n'expriment pas PD-L1 et qui sont moins susceptibles de bénéficier de l'inhibition de PD-1 seule. Ainsi, chez les patients atteints de tumeurs PD-L1-négatives, la survie sans progression était plus longue avec le traitement d'association qu'avec le nivolumab seul. Sont exposés dans le tableau *(tableau 1)* suivant les résultats de suivi des patients après 5 ans[115] .

Chez les patients atteints d'un mélanome avancé, il y a une survie globale significativement plus longue avec une association thérapeutique de nivolumab et d'ipilimumab ou avec le nivolumab seul qu'avec ipilimumab seul.

Variable	Nivolumab plus Ipilimumab (N=314)	Nivolumab (N=316)	Ipilimumab (N=315)
Best overall response — no. (%)†			
Complete response	69 (22)	60 (19)	18 (6)
Partial response	114 (36)	81 (26)	42 (13)
Stable disease	38 (12)	30 (9)	69 (22)
Progressive disease	74 (24)	121 (38)	159 (50)
Unable to determine	19 (6)	24 (8)	27 (9)
Objective response‡			
Patients with response			
No.	183	141	60
% (95% CI)	58 (53–64)	45 (39–50)	19 (15–24)
Estimated odds ratio (95% CI)§	6.35 (4.38–9.22)	3.54 (2.46–5.10)	—
P value§	<0.001	<0.001	—
Median duration of response (95% CI) — mo			
Intention-to-treat population	NR¶	NR (50.4–NR)	14.4 (8.3–53.6)
BRAF mutation status			
Patients with *BRAF* mutations	NR (21.0–NR)	55.0 (20.6–NR)	14.4 (6.9–NR)
Patients without *BRAF* mutations	NR (42.4–NR)	NR (50.4–NR)	19.2 (6.0–56.4)
Metastasis stage			
M1O/M1a/M1b	NR (NR–NR)	NR (36.3–NR)	13.4 (6.0–31.3)
M1c	NR (15.8– NR)	NR (26.2–NR)	47.4 (5.1–NR)
PD-L1 expression level			
<5%	NR (40.1–NR)	NR (50.4–NR)	12.8 (5.3–53.6)
≥5%	NR (18.1–NR)	NR (26.7–NR)	31.3 (6.1–NR)
Lactate dehydrogenase level			
≤ULN	NR (44.0–NR)	NR (45.7–NR)	22.3 (6.9–56.4)
>ULN	NR (25.4–NR)	NR (13.8–NR)	11.6 (1.8–NR)
Patients with complete response	NR (NR–NR)	NR (NR–NR)	NR (13.3–NR)
Continued response — no. of patients/ total no. (%)	57/69 (83)	49/60 (82)	13/18 (72)
Patients with partial response	19.8 (10.2–NR)	25.1 (16.4–NR)	8.3 (4.2–14.4)
Continued response — no. of patients/ total no. (%)	56/114 (49)	37/81 (46)	11/42 (26)

* NR denotes not reached, PD-L1 programmed cell death ligand 1, and ULN upper limit of the normal range.
† The best overall response was assessed according to the Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, version 1.1.
‡ Data included patients with a complete response and those with a partial response. The calculation of the 95% confidence interval was based on the Clopper–Pearson method.
§ The comparison is with the ipilimumab group.
¶ Although a median was reported in the previous analysis,[4] the estimate was immature and greater than the minimum trial follow-up.

Tableau 1. Résultats de suivi des patients à 5ans CheckMate-067

Extrait de [116]

PARTIE 2
TRAITEMENT DE LA COLITE SECONDAIRE AUX IMMUNOTHERAPIES

Effets secondaires inflammatoires dus au blocage des points de contrôle immunitaires

Ces nouveaux agents thérapeutiques présentent un profil de toxicité particulier, consécutivement à l'activation du système immunitaire. Les ICI peuvent avoir des effets secondaires inflammatoires voire auto-immuns, appelés **événements indésirables liés à l'immunité (irAE : immune-related adverse events)**[117].

D'après des données d'étude de phase II (Keynote-029[118] par rapport à CheckMate-067[119]), l'incidence des toxicités tend à augmenter lorsque la dose augmente et lors du traitement par combinaison d'anti-CTLA-4 et d'anti-PD-1[103]. 96% des patients de l'étude Checkmate 067[119] traités par ipilimumab (3mg/kg) plus nivolumab (1mg/kg) ont présenté au moins un irAE. Parmi eux, 59% ont développé des IrAE de grade 3-4 liés au traitement, contre 21% dans le groupe nivolumab et 28% dans le groupe ipilimumab. Les effets secondaires apparaissent généralement de quelques semaines à trois mois après le début du traitement, bien que les effets endocriniens puissent mettre plus de temps que d'autres à se manifester[117].

La plupart de ces effets secondaires sont légers et réversibles, ce sont les irAE de grade 1 et 2 (selon NCI-CTCAE v4[120])[117].

Les irAE de grade 3 et 4 (selon NCI-CTCAE v4[120]) incluent une éruption cutanée (rash et prurit), un trouble de la fonction hépatique (avec une augmentation des transaminases) et des troubles du système endocrinien (thyroïdites, adrénalites et hypophysites), des troubles gastro-intestinaux (colites inflammatoires se manifestant par des diarrhées, des douleurs abdominales).

	Nivolumab plus Ipilimumab (n = 313)		Nivolumab (n = 313)		Ipilimumab (n = 311)	
Side effects of treatment	All grades	Grade 3/4	All grades	Grade 3/4	All grades	Grade 3/4
All organ systems	300 (96%)	184 (59%)	270 (86%)	67 (21%)	268 (86%)	86 (28%)
Skin (rash, pruritus, vitiligo)	193 (62%)	20 (6%)	144 (46%)	7 (2%)	173 (56%)	9 (3%)
Gastrointestinal tract	150 (48%)	47 (15%)	70 (22%)	11 (4%)	117 (38%)	36 (12%)
Diarrhea	142 (45%)	29 (9%)	67 (21%)	9 (3%)	105 (34%)	18 (6%)
Colitis	40 (13%)	26 (8%)	7 (2%)	3 (1%)	35 (11%)	24 (8%)
Liver (transaminase elevation)	102 (33%)	62 (20%)	25 (8%)	9 (3%)	23 (7%)	5 (2%)
Endocrine organs	106 (34%)	20 (6%)	54 (17%)	5 (2%)	36 (12%)	8 (3%)
Hypothyroidism	53 (17%)	1 (<1%)	33 (11%)	0	14 (5%)	0
Hyperthyroidism	35 (11%)	3 (1%)	14 (4%)	0	3 (1%)	0
Adrenalitis	11 (4%)	6 (2%)	4 (1%)	2 (1%)	4 (1%)	1 (<1%)
Hypophysitis	23 (7%)	5 (2%)	2 (1%)	1 (<1%)	12 (4%)	5 (2%)
Pancreas (lipase/amylase elevation)	70 (22%)	43 (14%)	47 (15%)	20 (6%)	33 (11%)	16 (5%)
Lung (pneumonitis)	24 (8%)	3 (1%)	6 (2%)	1 (<1%)	6 (2%)	1 (<1%)
Kidney (creatinine elevation, nephritis)	22 (7%)	6 (2%)	4 (1%)	1 (<1%)	5 (2%)	1 (<1%)
Hypersensitivity/infusion reactions	13 (4%)	0	14 (4%)	1 (<1%)	8 (3%)	1 (<1%)

Tableau 2. IrAE des traitements nivolumab plus ipilimumab, nivolumab seul et ipilimumab seul en fonction des grades

Extrait de [121]

Bien que n'importe quel organe puisse être affecté, les irAE touchent principalement les systèmes cutanés et gastro-intestinaux tels que la colite pour les deux types de traitement.

La colite correspond à une inflammation de la muqueuse du gros intestin (côlon) et se traduit par différents troubles intestinaux (diarrhée et par des douleurs abdominales). Elle est sans doute l'effet secondaire le plus à craindre en raison de son incidence élevée et des complications qui lui sont associées. En effet, dans l'étude MDX-010-20[122], 31% des patients ont rapporté de la diarrhée et/ou une colite tous grades confondus, et 6% ont rapporté des grades 3/4. Il s'agit généralement de la première irAE conduisant à l'arrêt de l'anti-CTLA-4[123]. Une perforation du côlon survient chez 1% à 1,5% des patients atteints de mélanome traités par ipilimumab et 1,1% des patients décèdent des complications liées à l'entérocolite induite par l'ipilimumab[124125].

Cependant, il est à noter que l'apparition d'une forte toxicité va de pair avec une meilleure réponse, ce qui n'est pas le cas avec d'autres traitements comme les chimiothérapies[104].

La détection précoce de ces irAEs gastro-instestinaux est essentielle car, sans un traitement approprié, des décès secondaires à la toxicité sont possibles[104 126] . Tous les patients doivent être surveillés et une origine infectieuse doit être exclue. Des essais cliniques[103 126]ont démontré que l'élément clé dans la gestion des effets indésirables réside dans la rapidité de la prise en charge et l'administration précoce de glucocorticoïdes. Une étude rétrospective de patients atteints de mélanome avancé traités par ICI entre septembre 2010 et janvier 2017 montre que sur 412 patients recevant une thérapie par ICI, 157 (38%) ont nécessité l'administration de **glucocorticoïdes** anti-inflammatoires stéroïdiens (comme la methylprednisolone) pour traiter les toxicités[127].

Prise en charge des effets indésirables digestifs

La prise en charge médicamenteuse sera adaptée en fonction de ces grades définis par NCI-CTCAE v4 [120].

Prise en charge d'une toxicité de grade 1

Le grade 1 est défini comme étant asymptomatique avec moins de 3 selles liquides par jour de plus qu'avant le début du traitement[120].

Ces toxicités sont en général traitées symptomatiquement par un anti-diarrhéique type lopéramide et une supplémentation en électrolytes par voie orale si nécessaire associé à un régime sans fibre et sans lactose et, si l'évolution est favorable, la thérapie peut être poursuivie. Une surveillance rapprochée est tout de même nécessaire afin de réagir face à une aggravation

clinique ou persistance des symptômes supérieur à 14 jours. Dans ce cas, la toxicité sera prise en charge comme grade 2[117].

Prise en charge d'une toxicité de grade 2

Le grade 2 est défini par des douleurs abdominales, la présence de mucus ou de sang dans les selles ou des nausées ou des symptômes nocturnes avec entre 4 et 6 selles liquides par jour de plus qu'avant le début du traitement[120].

Dans ce cas, il est recommandé de suspendre le traitement, si après 3 jours de traitement symptomatique avec lopéramide et réhydratation il y a une persistance des effets indésirables, les diarrhées ou les colites persistantes doivent être traitées par une corticothérapie à la dose de 0,5 à 1 mg/kg/j de méthylprednisolone ou équivalent. Après amélioration, le traitement par ICI peut être repris après réduction progressive des corticoïdes. En cas d'aggravation ou d'absence d'amélioration, la prise en charge sera celle d'un irAE de grade 3[117].

Prise en charge d'une toxicité de grade 3 sous monothérapie

Le grade 3 est défini par des douleurs abdominales sévères, une modification de la fréquence des selles avec plus de 6 selles liquides par jour de plus qu'avant le début du traitement, des signes péritonéaux ou apparition de symptômes dans l'heure qui suit les repas, ou patient présentant des symptômes de grade 1 ou 2 avec d'autres symptômes comme la déshydratation, la fièvre ou une fréquence cardiaque accélérée[120].

Dans ce cas, il est recommandé de suspendre le traitement. Les diarrhées ou les colites persistantes doivent être traitées par une corticothérapie à la dose de 1 à 2 mg/kg 1 à 2 fois par jour de méthylprednisolone ou équivalent. Après amélioration jusqu'à un grade 1, le traitement peut être repris après réduction progressive des corticoïdes sur 1-2 mois. En cas d'aggravation ou d'absence d'amélioration, la prise en charge sera celle d'un irAE de grade 4 [117].

Prise en charge d'une toxicité de grade 4 (ou grade 3 sous bithérapie)

Le grade 4 implique une mise en jeu du pronostic vital nécessitant une intervention en urgence[120].

Dans ce cas, le traitement doit être arrêté définitivement et une corticothérapie à la dose de 1 à 2 mg/kg 1 à 2 fois par jour de méthylprédnisolone ou équivalent doit être initié. Une prophylaxie antibiotique peut être mise en place pour les patients immunsupprimés au long terme. Après amélioration jusqu'à un grade 1, le traitement peut être repris après réduction progressive des corticoïdes sur 1-2 mois[117].

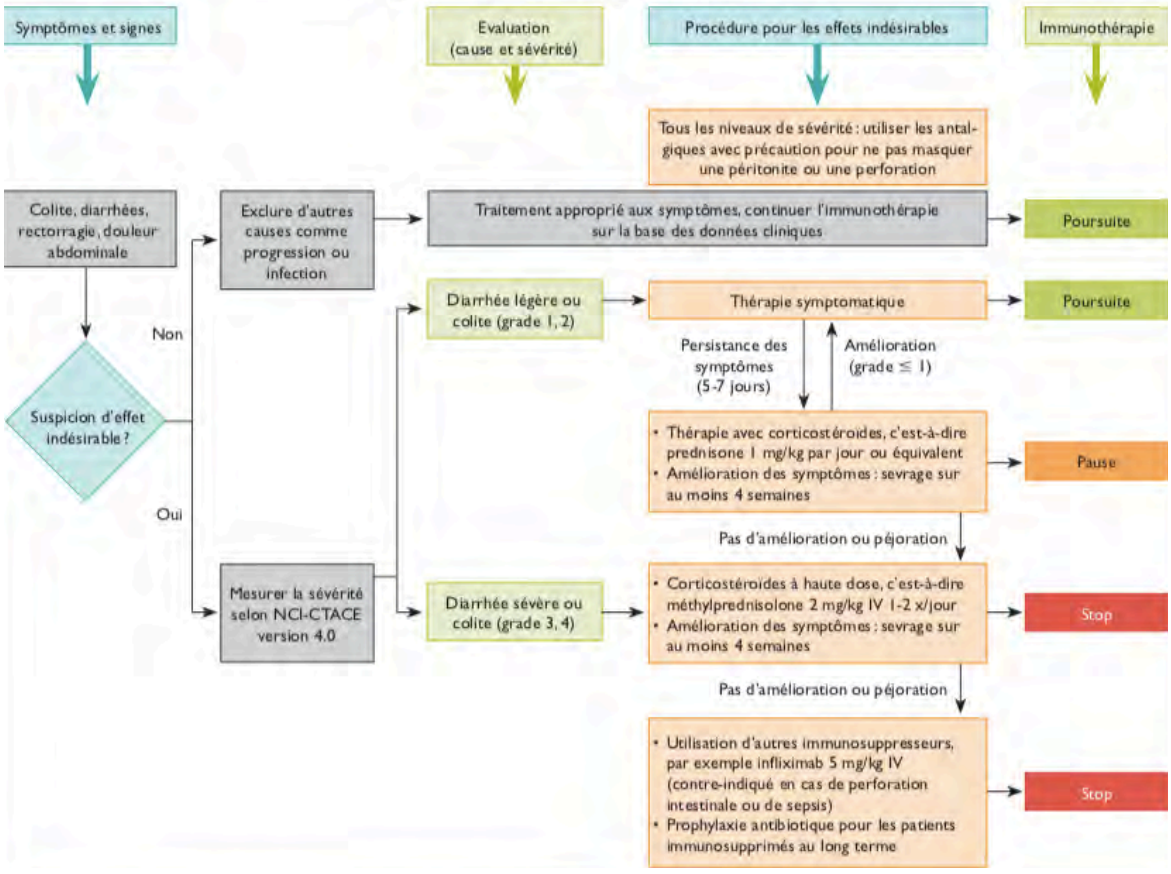


Figure 15. Algorithme de prise en charge des effets indésirables gastro-intestinaux liés à l'immunothérapie Extrait de [128]

La réponse aux glucocorticoïdes

Sachant que les ICI agissent en augmentant l'immunité anti-tumorale, il est opportun de se demander si l'immunosuppression systémique utilisée pour traiter les événements indésirables d'origine immunitaire pourrait interférer avec l'efficacité thérapeutique du blocage des points de contrôle immunitaires.

Des études rétrospectives[129][123] ont montré que les résultats pour les patients dont irAEs étaient traités par immunosuppression n'étaient pas plus mauvais dans l'ensemble que les résultats pour les patients qui n'ont pas reçu d'agents immunosuppresseurs pour traiter les irAEs et n'affecte donc pas le bénéfice potentiel à long terme du blocage des ICI[123]. De plus, une étude rétrospective[130] impliquant des patients atteints de mélanome a montré que le traitement anti-PD-1 pouvait être administré en toute sécurité après un événement indésirable grave lié à l'ipilimumab nécessitant une immunosuppression.

Cependant les stéroïdes exposent les patients à des risques de toxicité iatrogène tels que l'insomnie/l'anxiété, les changements d'humeur, les fractures ostéoporotiques, le diabète/ hyperglycémie, les infections opportuniste, une faiblesse musculaire proximale débilitante, une rétention hydrique ainsi qu'une insuffisance surrénalienne iatrogène (si la décroissance des corticoïdes est trop rapide)[131] [132]. Ces risques d'effets indésirables combiné au fait qu'un à deux tiers des patients ne répondent pas aux doses intraveineuses élevées de corticoïdes, et que certaines études montrent que 50 à 60% des patients ont une rechute lors de la diminution progressive des corticoïdes[133] [134] [135] font qu'environ 1% des patients nécessitent une administration d'un anticorps neutralisant le **TNF (*Tumor Necrosis Factor*) α** comme l'infliximab afin de traiter les irAEs.

LE TNFA ET LA COLITE

Le TNFα est le chef de file de la superfamille des facteurs de nécrose tumoraux (TNF); il est également appelé cachectine ou cachexine. C'est une cytokine de nature glycoprotéique ambivalente : d'un côté, elle est impliquée dans le maintien et l'homéostasie du système immunitaire inné et adaptatif, l'inflammation et la défense de l'hôte contre les infections bactériennes. Mais d'un autre côté, le TNFα contribue à des processus pathologiques tels que l'inflammation chronique et l'auto-immunité.

TNFα : production et signalisation

Le TNFα est secrété en réponse à de nombreux stimuli infectieux ou immunitaires :

- l'endotoxine de bactéries gram négatif, ou des signaux antigéniques de danger présents à la surface des membranes de bactéries, des champignons et des membranes de cellules tumorales
- des cytokines telles que les interleukines (IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13).

Parmi les mécanismes moléculaires, l'activation de NF-κB contribue à sa production[136]. A l'inverse, le TGFβ (cytokine anti-inflammatoire) inhibe sa production. Le TNFα est sécrété principalement par macrophages activés, mais aussi par les LT auxiliaires, les LT cytotoxiques, les NK, les granulocytes neutrophiles et éosinophiles, les mastocytes et les neurones[136].

Le TNFα est synthétisé sous la forme d'un propeptide inséré dans la membrane plasmique sous forme d'un homotrimère et dont le clivage par une endopeptidase à zinc TACE (TNFα converting enzyme) permet de générer une forme soluble homotrimérique [137]. Ces deux formes sont actives mais ont des affinités différentes pour les récepteurs membranaires au TNF.

Il existe deux récepteurs membranaires : Le **TNF-R1** est exprimé dans la plupart des tissus et peut être activé par le TNFα membranaire et soluble. Le TNF-R2 est exprimé généralement dans les cellules du système immunitaire et est préférentiellement stimulé par le TNFα membranaire. Les TNF-R1 et TNF-R2 membranaires sont des glycoprotéines avec un seul domaine transmembranaire et une orientation de protéine de type 1, c'est-à-dire que la partie aminoterminale est extracellulaire. Cette partie extracellulaire compte plusieurs motifs répétés de cystéine, caractéristiques de la superfamille des récepteurs au TNFα. Tandis que les domaines extracellulaires des deux récepteurs au TNFα présentent de fortes homologies, les domaines intracellulaires sont différents. Notamment, contrairement au TNF-R2, le TNF-R1 possède un domaine de mort (death domain) capable d'activer la signalisation des caspases conduisant à la mort cellulaire par apoptose. Les deux récepteurs sont toutefois capables d'activer des voies de signalisation communes comme NF-κB[136] et des protéines de la famille des MAPK (MAPK1/2, p38, JNK), contribuant, entre autres, à l'inflammation[138] *(figure 16)*.

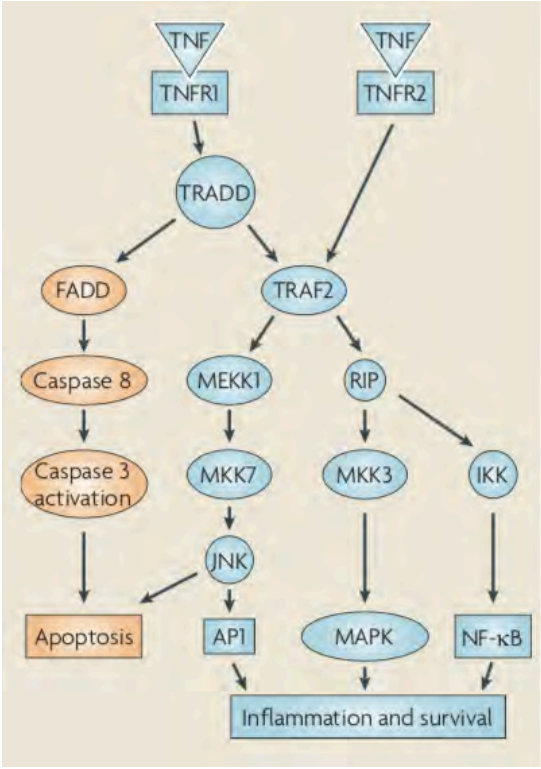


Figure 16. Voies de signalisation du TNF

Les recepteurs TNFR1 et TNFR2 en se liant au TNF, activent les voies de signalisaiton menant à l'apoptose par activation des caspases ou à l'inflammation et à la survie par activation de la voie NFkB
Extrait de [136]

Il existe également des récepteurs solubles (circulants) qui ont un rôle dans la régulation et la biodisponibilité du TNFα : ils entrent en compétition avec les récepteurs membranaires et réduisent ainsi l'activité biologique du TNFα en l'empêchant de stimuler les récepteurs membranaires[139].

Les effets de la signalisation du TNFα

Les effets directs et indirects d'activation de ces voies sont très nombreux conduisant notamment aux pathologies inflammatoires chroniques[136] :

- Production des cytokines, IL-1, IL-6 et IFNß
- Sécrétion par le foie des protéines de l'inflammation, notamment la protéine C réactive
- Expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales et les leucocytes favorisant le recrutement et l'infiltration
- Effet pro-coagulant indirect, *via* la production des protéines de l'inflammation, dont le fibrinogène
- Effet anorexigène et effet cachectisant
- Effet pyrogène direct et indirect par libération de prostaglandine E
- Effets métaboliques : hyperglycémie ; augmentation des acides gras libres et des triglycérides
- Mort cellulaire par apoptose ou nécrose programmée
- Effets complexes sur la production de radicaux libres
- Effet anti-infectieux par stimulation de l'activité phagocytaire des leucocytes.

TNFα et inflammation

L'inflammation[140] est un processus de réactions en chaîne, biologiques et cellulaires faisant intervenir des cytokines qui permettent aux cellules de communiquer entre elles afin que l'organisme initie, développe et achève une réponse à une agression, qu'elle soit traumatique, infectieuse ou auto-immune. Ce processus peut parfois devenir délétère lorsqu'il est victime d'un dysfonctionnement et peut aller jusqu'à menacer le pronostic vital quand la production des cytokines et de leurs effecteurs est excessive et/ou prolongée. Les effets du TNFα peuvent donc, selon les conditions, être soit bénéfiques (et il faut les renforcer) soit excessifs (et il est souhaitable de les réduire). Il est admis que le TNFα est impliqué dans de nombreuses pathologies chroniques humaines inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante, la maladie de Crohn, la rectocolite hémorragique et le psoriasis[141] ou encore dans la colite liée aux immunothérapies dans le mélanome.

Le TNFα joue un rôle essentiel dans la pathogenèse des effets indésirables des ICI. Les patients atteints d'irAEs présentent une régulation à la hausse du TNFα muqueux et une activation locale de la signature du gène TNFα. Perez-Ruiz[142] et ses collègues ont analysé l'expression de l'ARNm de gènes immunitaires dans des coupes de tissu muqueux sain provenant de biopsies du côlon de patients qui avaient une colite induite par un ICI *(figure17).* Dans les quatre cas de colite induite par ICI, l'expression de l'ARNm du TNFα est augmentée. Comme le TNFα est régulé à la hausse *in situ* dans les lésions intestinales des patients atteints, il est logique que le blocage de cette cytokine puisse prévenir ou atténuer la colite induite par ICI.

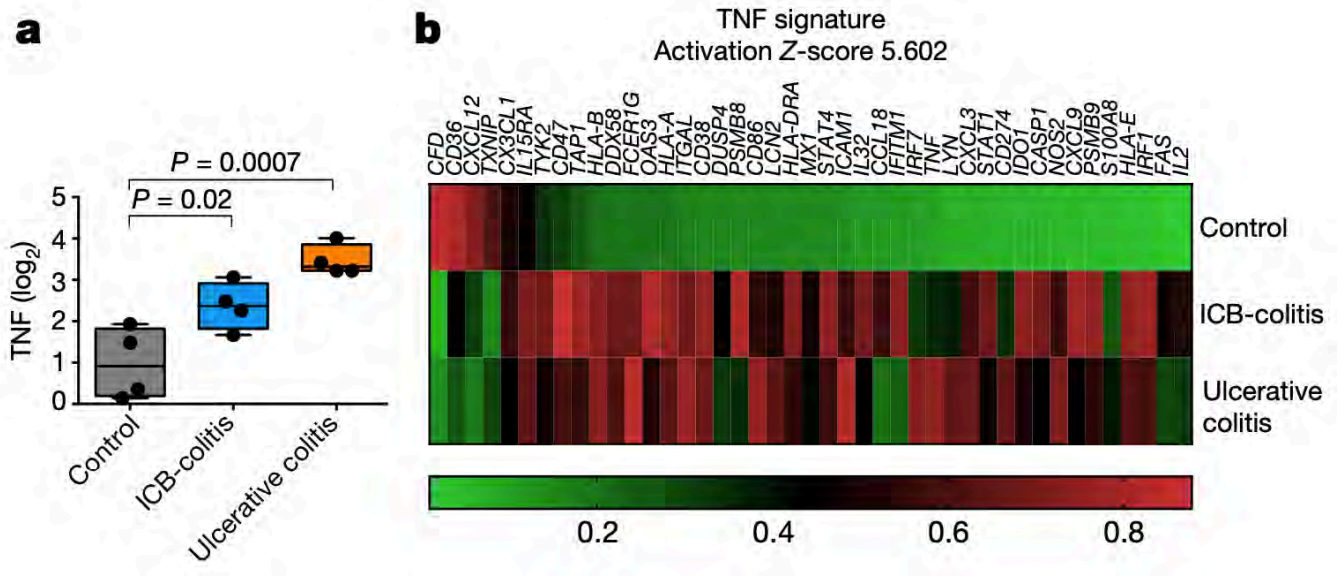


Figure 17. Le TNF est impliqué dans la colite induite par le blocage des points de contrôle immunitaire chez les patients

Le profilage de l'expression génique a été réalisé dans différents échantillons de tissu muqueux humain provenant de biopsies du côlon : quatre échantillons de tissu muqueux sain du gros intestin (contrôle) ; échantillons de quatre cas de colite induite par le blocage des points de contrôle immunitaires (ICB-colite) ; et des échantillons de quatre cas de colite ulcéreuse. a, Expression génique du TNF chez 4 individus par groupe. b, signature génique dépendante du TNF dans les groupes ICB-colite et colite ulcéreuse par rapport au groupe témoin. Les données proviennent d'une seule expérience (a, b).
Extrait de [142]

Les Anti-TNFα pour limiter les colites réfractaires aux corticoïdes

La colite induite par les ICI en échec primaire réfractaire à la corticothérapie, perte de réponse ou intolérance aux glucocorticoïdes imposent donc l'arrêt du traitement et l'introduction d'un anti-inflammatoire de 2e intention puissant : l'infliximab, un anticorps monoclonal qui se lie avec une grande affinité au TNFα et bloque son activité inflammatoire[143].

L'administration d'infliximab à raison de 5mg/kg en une seule dose est généralement efficace[144]. Bien qu'une réponse soit observée dans les 1 à 3 jours[123125145], certains patients bénéficient d'une dose supplémentaire d'infliximab, 2 semaines après première administration. Les anti-TNFα ne sont pas administrés de manière simultanée aux immunothérapies mais de manière séquentielle : la reprise du traitement par ICI est une décision complexe et doit toujours être individualisée[133]. Dans les colites de grade 1 et 2, le traitement par ICI est généralement repris après l'amélioration des symptômes. Dans les colites de grade 3 et 4, le traitement par ICI peut-être interrompu définitivement[146]

Les anti-TNFα

Depuis le début des années 1990 et grâce aux travaux de Jan Vilcek à la New York University School of Medicine[147], l'inhibition du TNFα fait partie des thérapies disponibles dans le traitement des maladies auto-immunes ou inflammatoires chroniques. Les **anti-TNFα** sont des médicaments issus de la biothérapie (aussi appelés biomédicaments) qui modulent les réponses biologiques induites ou régulées par le TNFα. Ils sont en plein essor et ont révolutionné la prise en charge et l'évolution de ces maladies en diminuant le phénomène inflammatoire. Ces médicaments sont de trois types.

Anticorps monoclonaux

Ce sont des IgG1 qui reconnaissent les deux formes de TNFα (circulant et membranaire) et le neutralisent directement. Ce sont des anticorps chimériques humain/murin (infliximab) ou humains (adalimumab, golimumab). La liaison au fragment Fab est bivalente : chaque anti-TNFα peut se lier à deux molécules de TNFα. Ces anticorps exercent également une action cytolytique des cellules exprimant le TNFα membranaire médiée par la portion Fc [cytotoxicité

dépendante des anticorps (ADCC), cytotoxicité dépendante du complément ou, encore phagocytose dépendante des anticorps (ADCP), signalisation inverse pro-apoptotique].

- **Infliximab** (REMICADE®) (*figure 18)* est un anticorps monoclonal chimérique humain/murin de type IgG1 (AMM juillet 1999). Des biosimilaires sont également disponible depuis 2013 (REMSIMA®, INFLECTRA®, FLIXABI®)[148]. Il est constitué du domaine variable d'une immunoglobuline de souris (25% de la molécule) spécifiquement dirigé contre le TNFα et du fragment constant d'une IgG1 humaine (75% de la molécule)[149].

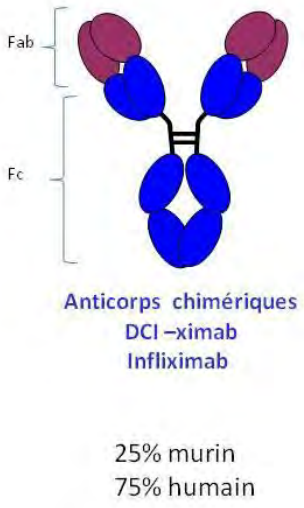


Figure 18. Représentation de l'anticorps monoclonal infliximab

Extrait de [150]

- Adalimumab (HUMIRA®) est un anticorps monoclonal humain recombinant de type IgG1 (AMM septembre 2003)[151] *(figure 19)*.
- Golimumab (SIMPONI®) est un anticorps monoclonal humain recombinant de type IgG1 (AMM octobre 2009)[152] *(figure 19)*.

Figure 19. Représentation des anticorps adalimumab et golimumab

Extrait de [150]

Protéines de fusion mimant le TNF-R2 soluble humain

Cela consiste en l'association de la portion extracellulaire de deux molécules de TNFR2 au fragment Fc de l'IgG1. Cette dimérisation est responsable d'une augmentation d'affinité par rapport aux récepteurs solubles physiologiques qui sont monomériques et sont des inhibiteurs compétitifs beaucoup plus puissants de la liaison du TNFα à ses récepteurs cellulaires[153154]. Cette association se comporte comme un leurre pour le TNFα circulant, neutralisant ainsi ses effets. C'est le cas de l'étanercept qui est aussi susceptible d'induire la mort des cellules exprimant le TNFα membranaire.

Etanercept (ENBREL®) (AMM février 2000)[155]*(figure 20)*. Il est à noter une propriété spécifique de l'etanercept par rapport aux autres anti-TNF. Il neutralise aussi la lymphotoxine alpha (LTα anciennement appelée TNFβ). En effet, la LTα, qui possède de fortes homologies

avec le TNFα, est aussi capable d'interagir avec les deux récepteurs au TNF. Ainsi, l'étanercept peut neutraliser les homotrimères de LTα et les hétérotrimères constitués de l'association de deux monomères de LTα et d'un monomère de la LTβ[156157]; Ainsi, l'étanercept n'est pas spécifique de la voie TNF/TNFR1/2 mais il peut bloquer aussi les voies LTα/TNF-R1/2 et LTα(2)LTβ(1)/LTβR.

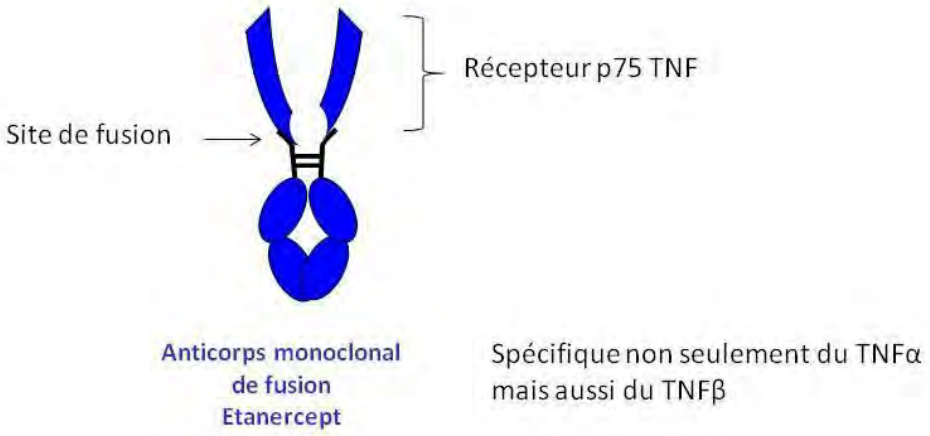


Figure 20. Représentation du TNF-R2 soluble, l'etanercept

Extrait de [150]

Fragment d'anticorps Fab humanisé

Le **certolizumab** pegol (CIMZIA®) est composé d'un fragment Fab d'anticorps humanisé recombinant, conjugué à du Polyéthylène Glycol (PEG) (AMM octobre 2009)[158] *(figure 21)*. Il est capable de neutraliser les formes solubles et membranaires de TNFα comme tous les autres anti-TNFα.

Cependant le certozilumab pégol ne contient pas de fragment Fc, normalement présente dans un anticorps complet. L'absence de Fc ne permet pas une action cytotoxique. C'est pourquoi, *in vitro*, il ne provoque pas de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps. Il n'induit, *in vitro*, ni apoptose des monocytes ou des lymphocytes du sang périphérique humain, ni la dégranulation des neutrophiles[159].

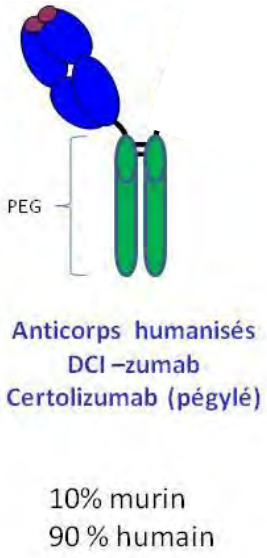


Figure 21. Représentation du Fab' humanisé, le certolizumab

Extrait de [150]

PARTIE 3
LES ANTI-TNFA DANS L'IMMUNOTHERAPIE DU MELANOME

LES ANTI-TNFA DANS L'IMMUNOTHERAPIE DES MELANOMES EN CLINIQUE

Les ICI ont révolutionné le pronostic chez les patients atteints de mélanome de stade avancé, mais comme nous l'avons vu précédemment, des effets indésirables sévères principalement d'origine immunitaire, dont la colite représente une préoccupation majeure, peuvent survenir. Bien que les glucocorticoïdes soient principalement utilisés comme immunosuppression de première intention, l'administration précoce de l'anticorps monoclonal anti-TNFα infliximab s'est de plus en plus répandue, en particulier pour les formes les plus sévères de colite résistantes aux corticoïdes systémiques à forte dose, en raison de son efficacité rapide et fréquente.

Cependant, nous avons aussi vu que les cellules tumorales ne se développent pas et ne survivent pas isolément, mais interagissent notamment avec les composantes immunitaires, inflammatoire dans le microenvironnement tumoral ; cette interaction détermine la survie, ou non, des cellules cancéreuses. Des données convaincantes existent pour étayer le lien causal entre l'inflammation et la progression du cancer[160] ; et le TNFα est un médiateur majeur de l'inflammation et est impliqué dans la modulation des réponses immunitaires innées et adaptatives.

Le TNFα joue un rôle dual dans le cancer pouvant induire la nécrose tumorale ou, a contrario, faciliter la progression tumorale en contribuant à une inflammation chronique. Son rôle biologique dans les cancers est encore mal compris et alors que les anti-TNF sont utilisés pour traiter les irAEs causées par ICI, il reste à savoir si le blocage du TNF affecte la réponse immunitaire anti-mélanome.

TNFα, un agent anti-tumoral

Le TNFα peut agir comme un facteur de nécrose tumorale en tant que cytokine cytotoxique. En effet, il a été initialement identifié en 1975 pour sa capacité à déclencher la nécrose du fibrosarcome cutané et à la nécrose tumorale chez la souris[161].

De plus, l'administration locale de TNF à forte dose est anti-angiogénique et a un puissant effet de nécrose des tumeurs. Actuellement, le TNFα recombinant est utilisé en thérapie anti-cancéreuse dans le traitement des sarcomes des tissus mous des membres. Il est administré sous anesthésie générale par perfusion de membre isolé (maintenu en hyperthermie pour éviter la diffusion dans la circulation générale) afin d'initier la mort des cellules endothéliales et par conséquent la nécrose tumorale, en association avec le Melphalan (chimiothérapie agent alkylant de chimiothérapie)[162].

Le TNFα peut donc être considéré comme un agent anti-cancéreux. Cependant, les essais cliniques réalisés chez l'Homme, fondés sur l'administration systémique de TNFα chez des patients atteints de cancer avancé, ont montré une faible efficacité thérapeutique, ainsi que des intolérances majeures se traduisant par une auto-inflammation, une cardiotoxicité et une hépatotoxicité[163].

TNFα, un agent pro-tumoral

Le TNFα peut également agir comme un facteur de promotion de la tumeur[164]. Contrairement aux connaissances antérieures, de plus en plus d'arguments scientifiques indiquent que le TNFα produit par les cellules cancéreuses peut favoriser l'établissement d'un microenvironnement pro-inflammatoire. Cela passe, entre autres, par l'activation de l'expression de cytokines/chimiokines, de facteurs pro-angiogéniques et des métalloprotéinases

matricielles[165 166] qui modulent la réponse immunitaire[167 168], la prolifération des cellules cancéreuses, l'angiogenèse tumorale, contribuant ainsi à la progression tumorale. Parmi les mécanismes d'immunosuppression, le TNF facilite l'activité biologique et/ou l'expansion des cellules immunosuppressives comme les LT régulateurs[169], les LB régulateurs[170] et les MDSC[171], modulateurs négatifs clés de la réponse immunitaire[168].

De plus, il a été récemment montré que le TNFα, qui est produit chez des patients traités par des inhibiteurs de $BRAF^{V600E}$[172 173], peut conférer une résistance au traitement du mélanome humain en augmentant l'expression de Twist1, un facteur de transcription pro-métastatique[174].

Le rôle pro-tumoral du TNFα ne se limite pas qu'aux mélanomes. Dans le cancer du sein, les macrophages infiltrant les tumeurs jouent un rôle important dans la pathogenèse tumorale[175]; ils stimulent la prolifération des cellules tumorales, l'angiogenèse, l'invasion et les métastases des cellules cancéreuses [176177]. Or, les macrophages associés aux tumeurs sont une source majeure de TNFα dans le cancer du sein et peuvent réguler la thymidine phosphorylase, une enzyme angiogénique importante dans la tumeur[175 178]. Des récepteurs du TNFα ont été détectés sur les cellules de l'infiltrat mononucléaire et sur l'endothélium des carcinomes mammaires invasifs[178].

Le rôle du TNFα dans le mélanome reste donc controversé mais il est établi qu'il a un rôle dans le cancer : Différentes études ont illustré le rôle du TNFα dans la formation de tumeurs cutanées. Partant de ce constat, il est possible de supposer que le traitement anti-TNFα pourrait avoir une conséquence sur les réponses immunitaires anti-tumorales. La justification biologique de la combinaison de thérapies anti-TNFα avec les ICI provient de connaissances récentes sur le rôle du TNFα dans l'immunologie des tumeurs auxquelles s'ajoutent à un nombre croissant de publications qui impliquent une inflammation innée dans la promotion de la tumeur

[179180]. Dans cette partie, nous allons évaluer les **conséquences du blocage de la signalisation du TNFα** en traitement de ces colites sur la survie des patients atteints de mélanome avancé. Dans un premier temps, il semble opportun d'étudier s'il existe un lien entre la toxicité des ICI (les colites) et l'efficacité du traitement (la survie des patients).

Toxicité des ICI et survie des patients

Rik J. Verheijden, *et al.*[181] ont analysé cette relation entre toxicité sévère et survie globale. Dans une étude rétrospective incluant 1250 patients atteints de mélanome traités avec des ICI, 589 ont été traités par du nivolumab, 576 par de l'ipilimumab et 85 par thérapie combinée. 312 patients (soit 25%) ont développé une toxicité sévère (de grade ≥3). Les patients présentant une toxicité sévère aux ICI avaient une survie significativement plus longue avec une survie globale médiane de 23 mois par rapport à 15 mois pour les patients sans toxicité sévère (HR 0,77; $IC_{95\%}$, 0,63-0,93) *(figure 22)*.

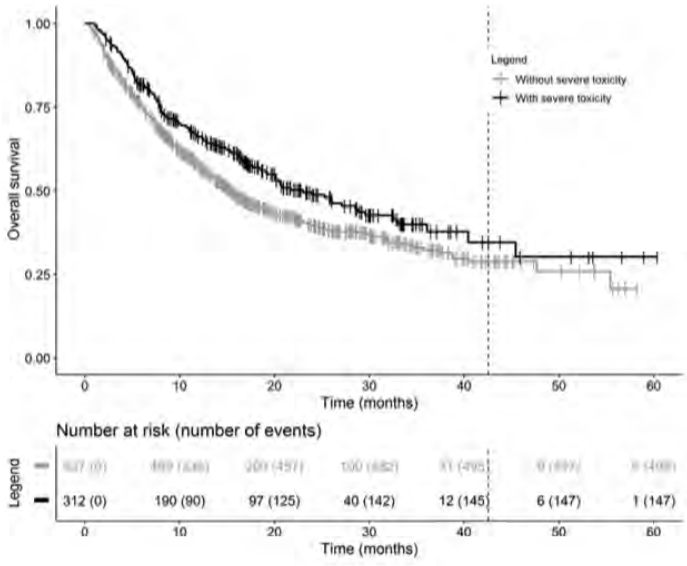


Figure 22. Estimations de Kaplan-Meier pour la survie globale chez les patients atteints de mélanome

Patients traités avec n'importe quel inhibiteur de point de contrôle en première ligne avec des irAE sévères (courbe noire) par rapport à ceux sans (courbe grise). Lignes pointillées indiquant <10 patients à risque dans le bras toxicité (43 mois).
Extrait de [181]

Il est possible de tirer de cette étude que les patients atteints de mélanome avancé présentant une toxicité sévère pendant le traitement ICI ont une survie globale prolongée par rapport aux patients ne présentant pas de toxicité. Ce lien parait logique si l'on considère la toxicité de l'ICI comme le reflet de l'activation immunitaire résultant d'un blocage efficace des ICI. Nous pouvions prédire une corrélation entre la toxicité et l'efficacité donc la survie. Mais le traitement de cette toxicité par l'anti-TNFα annihile-t-il ce bénéfice de survie globale ?

Impact du traitement anti-TNFα sur la survie des patients atteints de mélanome

Dans cette même étude, Rik J. Verheijden, *et al.*[181] ont aussi analysé si la gestion de la toxicité par un inhibiteur anti-TNFα affectait la survie de ces patients.

Chez les patients présentant une toxicité sévère, la survie a été significativement diminuée chez 65 patients traités par anti-TNFα pour une toxicité réfractaire aux corticoïdes par rapport aux 157 patients dont la toxicité a été prise en charge uniquement par corticoïdes (HR 1,61; $IC_{95\%,}$ 1,03–2,51), avec une survie globale médiane respectivement de 17 et 27 mois *(figure 23)*. Cette étude rétrospective d'une large cohorte de patients atteints d'un mélanome localement avancé non résécable et traités par ICI suggère que la prise en charge des irAEs utilisant l'infliximab, combiné, ou non, aux corticoïdes, est associée à une survie globale plus courte par rapport aux corticoïdes seuls. L'avantage d'efficacité de l'ICI serait donc compromis lorsque l'anti-TNFα est administré pour une toxicité réfractaire aux corticoïdes.

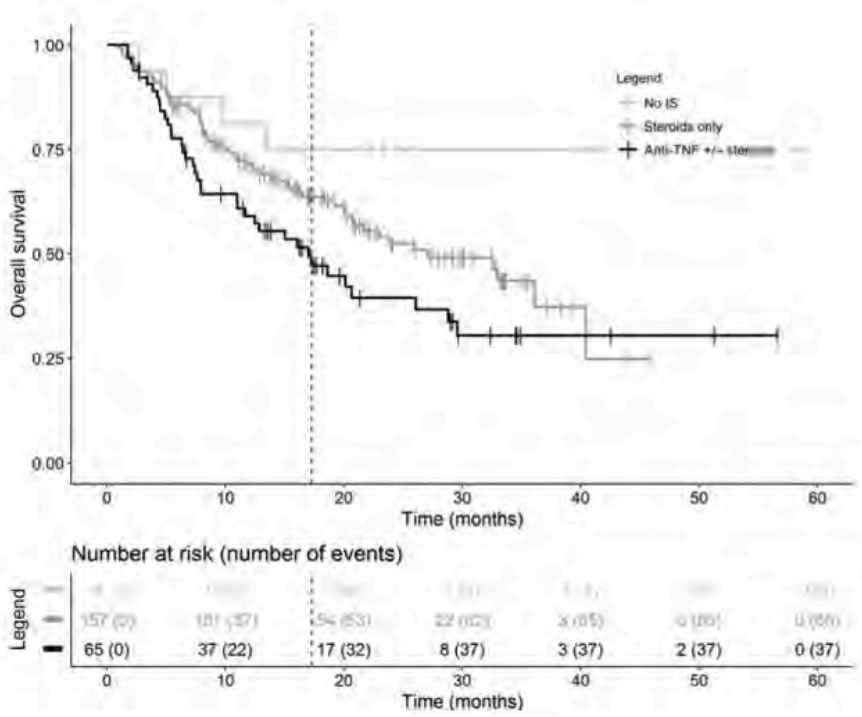


Figure 23. Estimations de Kaplan-Meier pour la survie globale chez les patients atteints de mélanome traités par un inhibiteur du point de contrôle immunitaire en première ligne avec des irAE sévères recevant des stéroïdes seuls, des anti-TNF associés, ou non, aux stéroïdes

Ligne pointillée indiquant <10 patients à risque dans le bras sans immunosuppression. IS, immunosuppression.
Extrait de [181]

Cependant, trois autres études rétrospectives tirent une conclusion contradictoire quant à l'impact des anti-TNFα sur la survie globale des patients atteints de mélanome suggérant que, tout en résolvant efficacement la colite induite par ICI, l'infliximab ne semble pas entraver la réponse au traitement.

Johnson DH *et al*.[182] ont mené la première étude rétrospective évaluant la disparition des colites dues aux ICI chez les patients atteints de mélanome, traités ou non par infliximab. Il s'agit d'une étude rétrospective qui a pour objectif principal d'évaluer l'efficacité de l'association infliximab et corticoïdes avec celle de corticoïdes seuls pour la gestion des irAEs. Mais ce qui nous intéresse ici est la survie globale (critère d'évaluation secondaire). Parmi 75 patients atteints de colite, des analyses de survie ont été réalisées pour 40 patients atteints de mélanome de stade IV parmi lesquels 18 patients ont été traités par infliximab + corticoïdes et 22 par corticoïdes uniquement. La survie globale médiane n'a été atteinte dans aucun des deux groupes

mais la différence de survie globale entre les deux groupes de traitement n'était pas statistiquement significative. Aucun impact négatif de l'anti-TNFα sur la survie n'a été observé *(figure 24).*

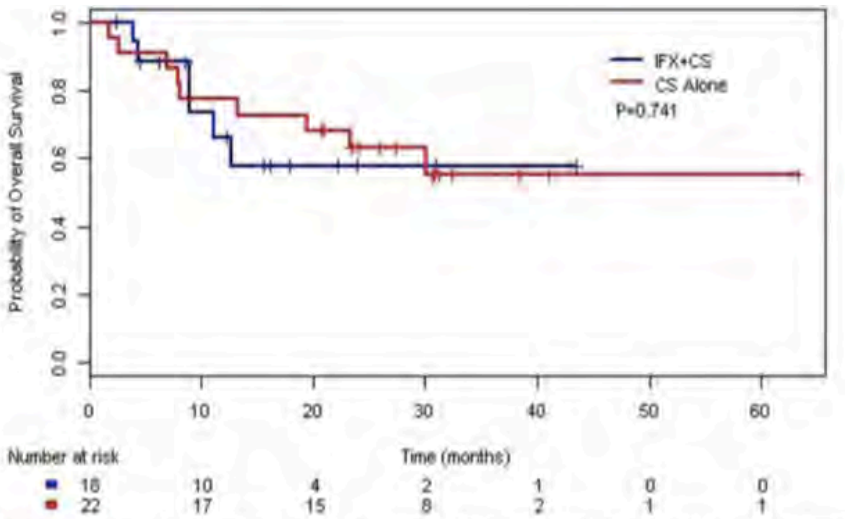


Figure 24. Analyse Kaplan-Meier de la survie globale des patients atteints d'un mélanome de stade IV La valeur médiane n'a pas été atteinte dans les groupes infliximab et corticoïdes. Suivi médian 26 mois

Extrait de [182]

Les résultats suggèrent que l'ajout d'infliximab à la corticothérapie pour le traitement de la colite n'a pas eu d'impact significatif sur la survie globale des patients atteints de mélanome de stade IV.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Lesage C *et al*[183], une enquête rétrospective multicentrique à l'échelle nationale menée pour évaluer à la fois l'incidence réelle de la colite induite par ICI de grade 3/4 traitée par anti-TNFα chez les patients atteints de mélanome avancé et les conséquences de cette stratégie thérapeutique sur l'évolution de la maladie. Tous les patients atteints de mélanome avancé traités par des anti-TNFα pour une colite sévère liée à l'ICI dans les centres participants ont été inclus. L'impact possible du traitement anti-TNFα sur l'issue de la maladie a été évalué en comparant la réponse objective, la survie sans progression et la survie globale avec les données de la littérature. De mai 2012 à novembre 2017, 2694

patients ont été traités par ICI pour un mélanome avancé, quelle que soit la molécule, dans l'ensemble, une colite sévère liée à l'ICI nécessitant des anti-TNFα est survenue chez 1% des patients atteints de mélanome avancé (soit 27 patients), principalement sous ipilimumab. Tous les patients ont reçu des traitements symptomatiques de la diarrhée et des corticoïdes systémiques jusqu'à 2mg/kg IV avant d'envisager un traitement anti-TNFα, comme recommandé. L'infliximab a été utilisé avec succès chez tous les patients sauf un.
Chez ces 27 patients, la survie globale médiane et la survie sans progression étaient respectivement de 12 et 3 mois, avec une survie globale à 1 an de 65,2%. À la date de la dernière actualité 13 patients (48%) étaient vivants, dont 3 étaient toujours en réponse complète. Les taux de réponse à l'immunothérapie et les données de survie ne semblent pas différer significativement de ceux observés dans les études pivots. D'après les auteurs de cette étude, l'infliximab est très efficace dans ce contexte et ne semble pas avoir d'effet négatif sur l'issue de la maladie.

L'étude publiée par Badran *et al.*[184], indique pour la première fois que le traitement concomitant de patients cancéreux avec ICI et anti-TNFα empêche non seulement la colite induite par ICI sans altération de la survie des patients mais facilite également la diminution des corticoïdes. La corticothérapie est un traitement qui dure en moyenne 58 jours[185]. Étant donné que les corticoïdes altèrent probablement les réponses immunitaires anti-cancéreuses, exposent à une toxicité iatrogène et ont un taux de réponse sans rechute médiocre, les anti-TNFα peuvent constituer une bonne stratégie alternative pour prévenir les irAEs déclenchés par l'ICI.

Sont décrits ici les résultats de cette petite étude rétrospective de 5 patients atteints de différents cancers et traités simultanément avec des anti-TNFα et un ou deux ICI. Tous les patients avaient

développé une colite sévère dans les 40 jours suivant leur première dose d'ICI. Sur présentation de symptômes, tous les patients ont initié un traitement corticoïde et ont obtenu un bon contrôle. Les patients 1, 3, 4 et 5 ont été incapables de maintenir le contrôle des symptômes avec une diminution progressive des corticoïdes. Un traitement infliximab est proposé. Contrairement aux recommandations de prise en charge de la colite, les auteurs ont poursuivi le traitement par ICI tout en co-administrant l'infliximab (dose de 5 mg/kg, fréquence patient-dépendant).
Tous les patients ont continué de recevoir les ICI sans récidive des symptômes. Des endoscopies répétées ont montré une résolution de l'inflammation aiguë et l'imagerie n'a montré aucune progression du cancer. La stabilité globale de la maladie a été observée pour tous les patients sauf un : le patient 4 avait une progression de sa maladie malgré une thérapie ciblée, une immunothérapie et une radiothérapie.

Les données rétrospectives actuelles sont controversées quant à l'impact des anti-TNF sur la survie globale des patients atteints de cancer avancé traités par ICI. Tandis que l'étude Rik J. Verheijden, *et al*[181] indique que les anti-TNFα pourraient diminuer la survie globale, l'étude de Badran et al suggère que la thérapie combinant anti-TNFα et ICI est (i) sûre, (ii) n'a pas d'impact négatif sur le contrôle de la tumeur, (iii) permet une diminution des corticoïdes, et (iv) est associée à un meilleur profil d'effets secondaires. Ainsi, d'après l'étude de Badran, le TNF pourrait être une cible envisageable dans le traitement du cancer par ICI[186187]. Cette hypothèse nécessite d'être évaluée dans un contexte d'essai clinique prospectif chez des patients atteints de mélanome avancé pour définir clairement les populations dans lesquelles l'utilisation d'anti-TNFα de manière concomitante à l'immunothérapie est sure et conduit à une meilleure efficacité thérapeutique anti-tumorale.
Il est donc intéressant d'étudier la possibilité d'une association anti-TNFα et ICI dès le début de l'immunothérapie, qui serait susceptible d'apporter un bénéfice réel. De plus, nous ne

connaissons pas les conséquences chez l'Homme des anti-TNFα sur la réponse immunitaire dans un contexte d'immunothérapie du mélanome. Des études précliniques chez la souris, montrant un bénéfice potentiel des anti-TNFα sur la réponse immunitaire anti-tumorale, ont été récemment publiées.

ÉTUDES PRECLINIQUES SUR L'UTILISATION DES ANTI-TNF DANS LE MELANOME EXPERIMENTAL

La première étude évaluant la combinaison des anti-TNFα et des ICI chez la souris a été réalisée dans le Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse (CRCT). De manière remarquable, les anti-TNFα augmentent l'efficacité des anti-PD-1 dans un modèle de mélanome B16, les cellules B16K1, lignées cellulaires de mélanome murin qui expriment fortement le CMH I [188] (*figure 25)*.

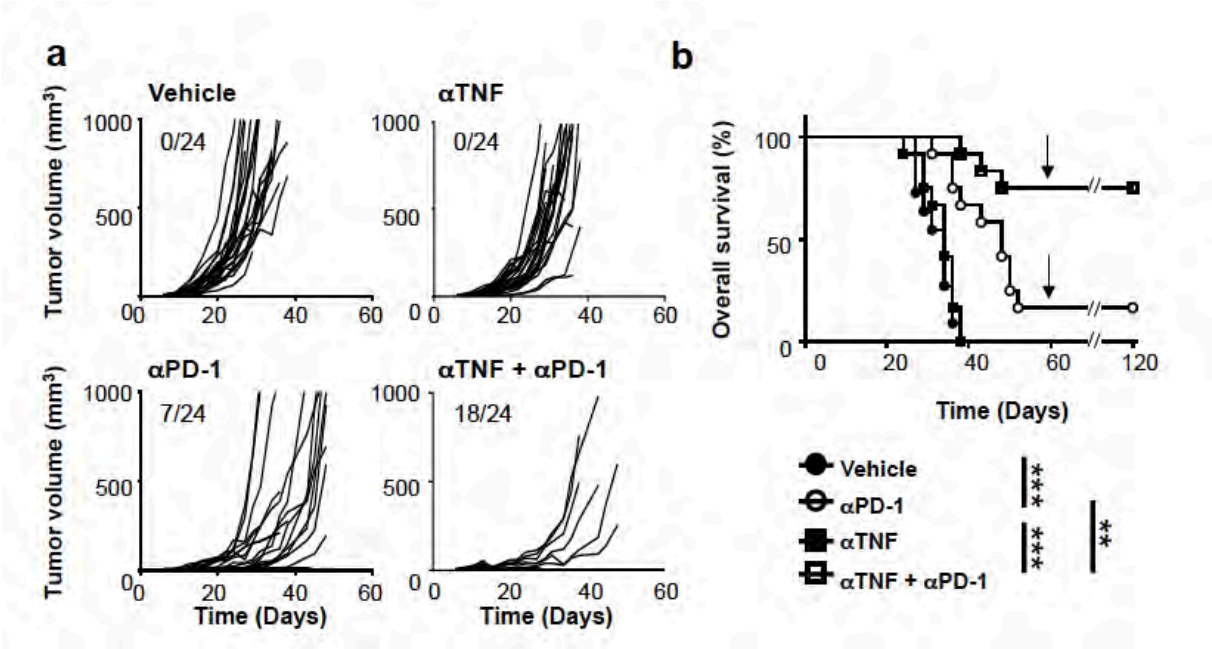


Figure 25. Les anti-TNF améliorent la réponse aux anti-PD-1 dans un modèle de mélanome chez la souris

*Des souris C57BL/6 ont été greffées par voie intradermique avec 3x105 cellules de mélanome B16K1. Puis les souris ont été injectées par voie intrapéritonéale d'anticorps avec des anti-TNF (αTNF, 10 mg kg-1) ou du PBS aux jours 6, 9, 13 et 16 (n = 12 souris par groupe). a, les volumes des tumeurs individuelles sont représentés. Les nombres indiquent une régression tumorale complète sur le total des tumeurs. b, courbes de survie cumulée. Au jour 60, (flèche) les souris survivantes ont été injectées avec une seconde injection de B16K1; ces souris n'ont pas développé de tumeurs et ont survécu (test Logrank: ** p <0,01; *** p <0,001). Extrait de* [188]

Deux ans après la publication de cette première étude, l'équipe d'Ignacio Melero[142] a montré l'intérêt du blocage concomitant du TNFα, du PD-1 et de CTLA-4 chez des souris porteuses de tumeurs coliques MC38 ou mélaniques B16. Ainsi, l'inhibition du TNFα avec un anticorps monoclonal spécifique ou l'etanercept, qui croise avec le TNF murin, n'altère pas les effets anti-

tumoraux des ICI. Au contraire, chez certaines souris, la combinaison des anti-TNFα et des ICI augmentent le rejet des tumeurs et la survie par rapport aux souris traitées avec les ICI seuls *(figure 26)*. Les effets potentialisateurs des anti-TNFα vis-à-vis des immunothérapies sont aussi observés chez des souris développant une colite expérimentale par ingestion de dextrane sulfate de sodium (DSS).

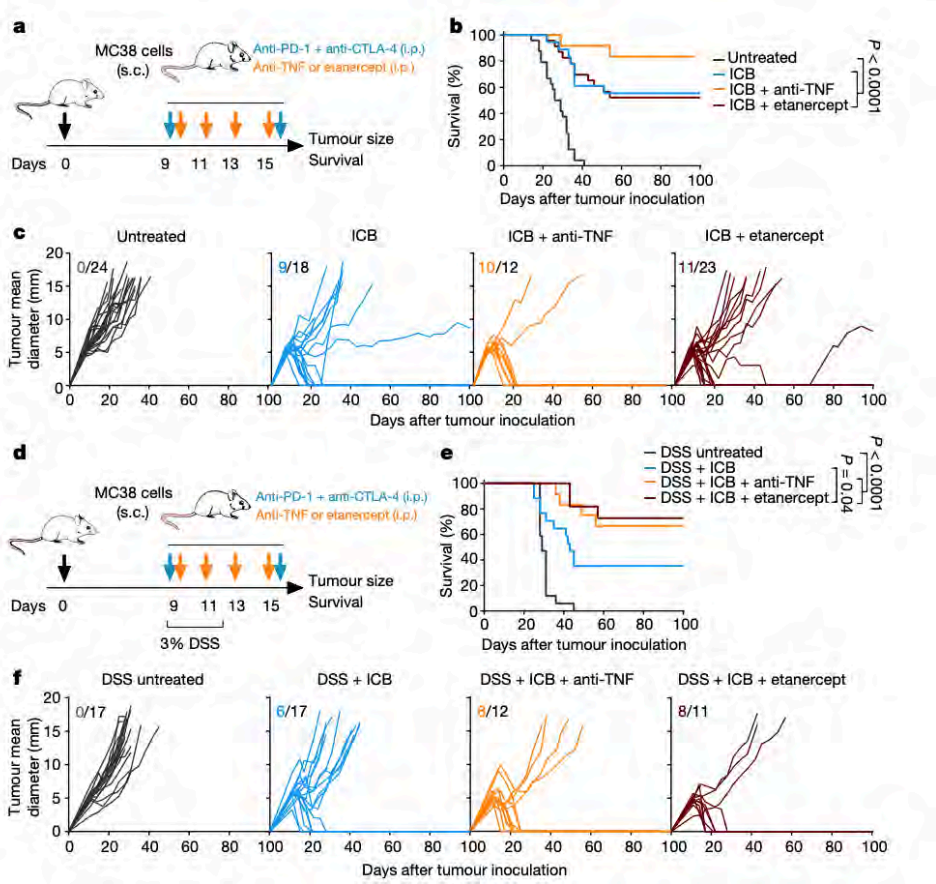


Figure 26. Blocage concomitant du TNF, de PD-1 et de CTLA-4 dans un modèle préclinique de cancer du côlon

a et d, Représentation schématique des traitements appliqués à des souris greffées par voie sous-cutanée (s.c.) avec des cellules MC38. b et e, Survie globale des différents groupes. c et f, Courbes de tumorigenèse individuelle. Les chiffres correspondent aux souris ayant rejetées les tumeurs / nombre total de souris. d à f Les expériences sont réalisées avec colite induite à partir du jour 9 par apport de DSS dans l'eau de boisson.[142]
Extrait de [142]

Donc les anti-TNF n'altèrent pas les effets anti-tumoraux des ICI dans le mélanome et dans un modèle de cancer colique chez la souris ; au contraire, ils les potentialiseraient.

POURQUOI LE BLOCAGE DU TNFA A-T-IL UN IMPACT BENEFIQUE SUR L'IMMUNITE ANTI-TUMORALE ?

Dédifférenciation des cellules du mélanome

Chez la souris, il a été démontré que le TNFα provoque une dédifférenciation des cellules du mélanome associée à la perte de l'expression des antigènes mélanocytaires, favorisant l'échappement immunitaire des cellules de mélanome[189]. Cela peut être évalué indirectement en quantifiant la teneur des tumeurs en LT CD8+ qui sont spécifiques d'un antigène de différenciation des cellules mélanocytaires comme TRP2. En utilisant la technologie des dextramères de CMH I, il a été montré que la teneur en LT CD8+ spécifiques de TRP2 est plus élevée dans les tumeurs dérivées d'animaux déficients en TNF[190] *(figure 27)*.

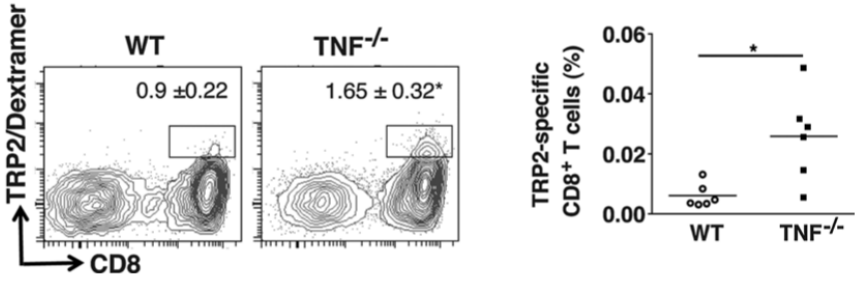


Figure 27. La teneur en LT CD8+ spécifiques de TRP2 est plus élevée dans les tumeurs dérivées d'animaux déficients en TNFα

*Graphiques de densité à gauche. Les valeurs sont le pourcentage de TIL CD8 spécifiques de TRP2 parmi les cellules T totales (moyennes +/- SEM). À droite, les valeurs sont le pourcentage de TIL CD8 spécifique à TRP2 parmi les lymphocytes T CD8. Les barres représentent les valeurs moyennes. Les données sont représentatives de deux expériences indépendantes. *P <0,05*
Extrait de [190].

Cette augmentation des LT CD8+ spécifiques de TRP2 chez les souris déficientes en TNF pourrait être liée à une diminution de la dédifférenciation des cellules de mélanome (avec maintien de l'expression d'antigènes mélaniques comme TRP2) et/ou à un effet direct sur les

LT CD8+ infiltrant les tumeurs. **L'inhibition du TNFα est associée à une augmentation de l'infiltration des tumeurs par les LT CD8+ spécifiques d'antigène mélanocytaire.**

Infiltration, survie et réponse des lymphocytes T CD8+

La proportion et l'activation des LT CD8+ est augmentée chez les souris déficientes en TNFα

Des souris déficientes en TNFα et sauvages ont reçu une injection d'1 million de cellules B16K1 et ont été sacrifiées 12 jours plus tard. Dans ces conditions, il est tout d'abord observé une réduction significative du poids des tumeurs B16K1 chez les souris déficientes en TNFα. Cela permet de confirmer une fois encore le rôle du TNFα dans le mélanome chez la souris. Ce qui nous intéresse ici est la proportion et l'activation des lymphocytes : les nombres absolus de leucocytes CD45+ ainsi que de LT CD4+ et CD8+ sont significativement augmentés dans les ganglions lymphatiques drainants la tumeur des souris déficientes en TNFα. L'analyse de l'expression de CD69 (marqueur d'activation des LT) indique que le nombre de LT CD4+ et CD8+ activés est plus important chez les souris déficientes en TNFα. La production d'IFNγ, d'IL6 et d'IL10 est aussi augmentée par le déficit en TNFα[190] (*figure 28)*.

Dans la même étude, les LT CD4+ et CD8+ infiltrant la tumeur sont aussi augmentés chez les souris déficientes en TNF, incluant les LT CD8+ spécifiques de TRP2 comme illustré dans la figure 29.

La proportion des LT activés est donc augmentée dans les ganglions drainant les tumeurs ainsi que dans les tumeurs de souris déficientes en TNFα. De plus, le déficit en TNF favorise la production de cytokines, notamment l'IFNγ, une cytokine anti-tumorale clef.

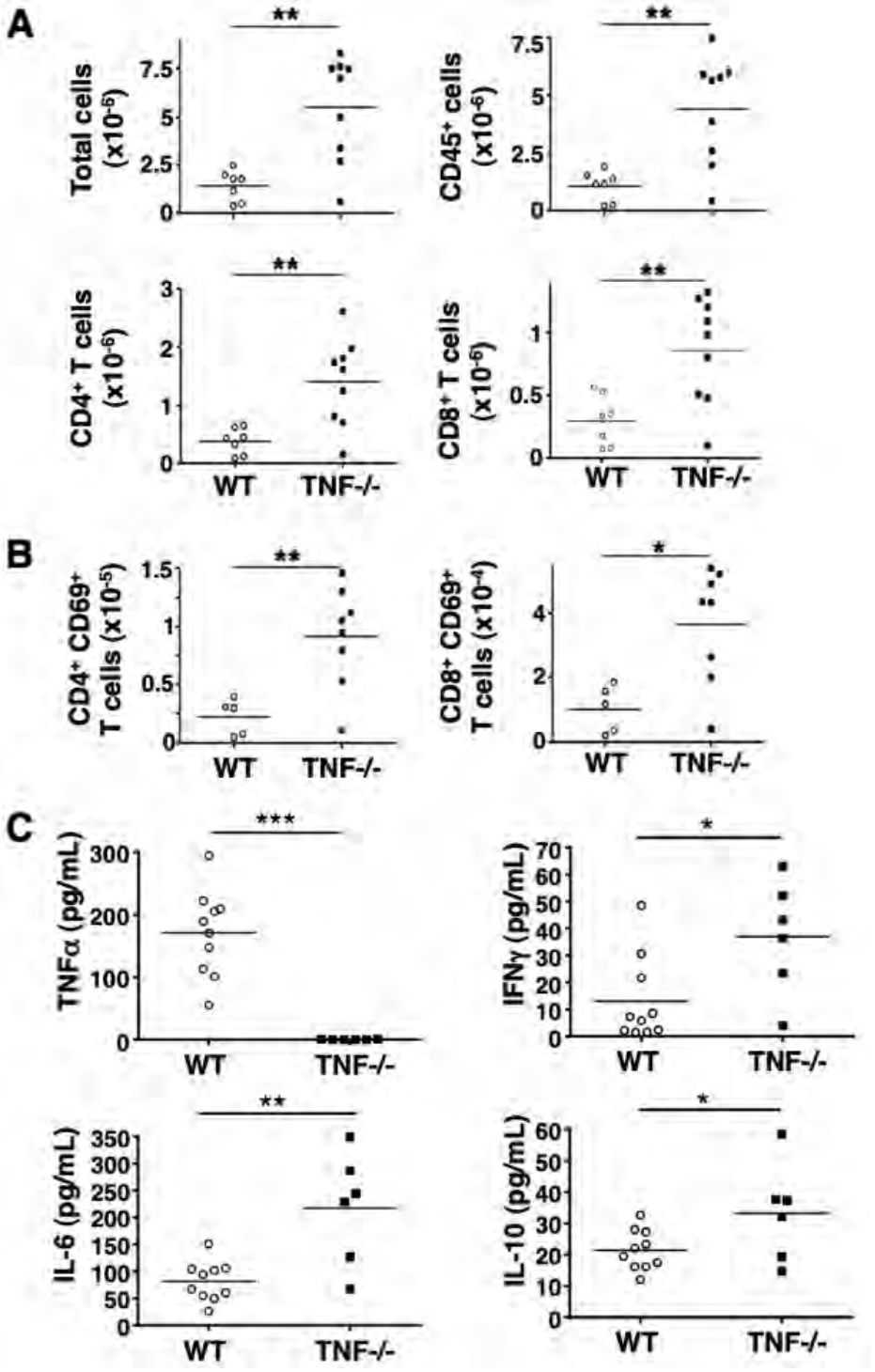


Figure 28. Accumulation des LT activés dans les ganglions chez les souris déficientes en TNF

Des cellules B16K1 sont injectées chez des souris déficientes en TNF (TNF -/-) ou sauvages (WT). 12 jours après, les cellules des ganglions drainant la tumeur sont quantifiées et analysées par cytométrie en flux (A et B). Alternativement, elles sont co-cultivées en présence de B16K1 irradiées pendant 3 jours. Les cytokines sont dosées dans le milieu de culture.
Extrait de [190]

La teneur des tumeurs mélaniques en LT CD8+ est augmentée de manière TNFR1-dépendante

Le rôle des récepteurs du TNFα de l'hôte a ensuite été évalué en comparant la croissance tumorale des B16K1 chez les souris sauvages et déficientes en TNFR1 ou en TNFR2. La croissance tumorale des B16K1 est significativement réduite chez les souris déficientes en TNFR1, contrairement aux souris déficientes en TNFR2, indiquant que la signalisation TNFα/TNFR1 favorise le mélanome chez la souris. La signalisation du TNFα dépendant du TNFR1 de l'hôte semble altérer la réponse immunitaire dépendante des LT CD8+. Ainsi, la teneur en CD8+ TIL (tumor infiltrating lymphocytes, ou lymphocytes infiltrant les tumeurs), y compris les LT CD8+ spécifiques de TRP2, est augmentée chez les souris déficientes en TNFR1, de la même manière que chez les souris déficientes en TNFα[190] (*figure 29)*.

Un déficit en TNFR1 augmente significativement l'accumulation de LT CD8+ spécifiques de TRP2 dans les tumeurs. **Ceci suggère que le TNFα altère la teneur en TIL CD8+ par un mécanisme dépendant du TNFR1.**

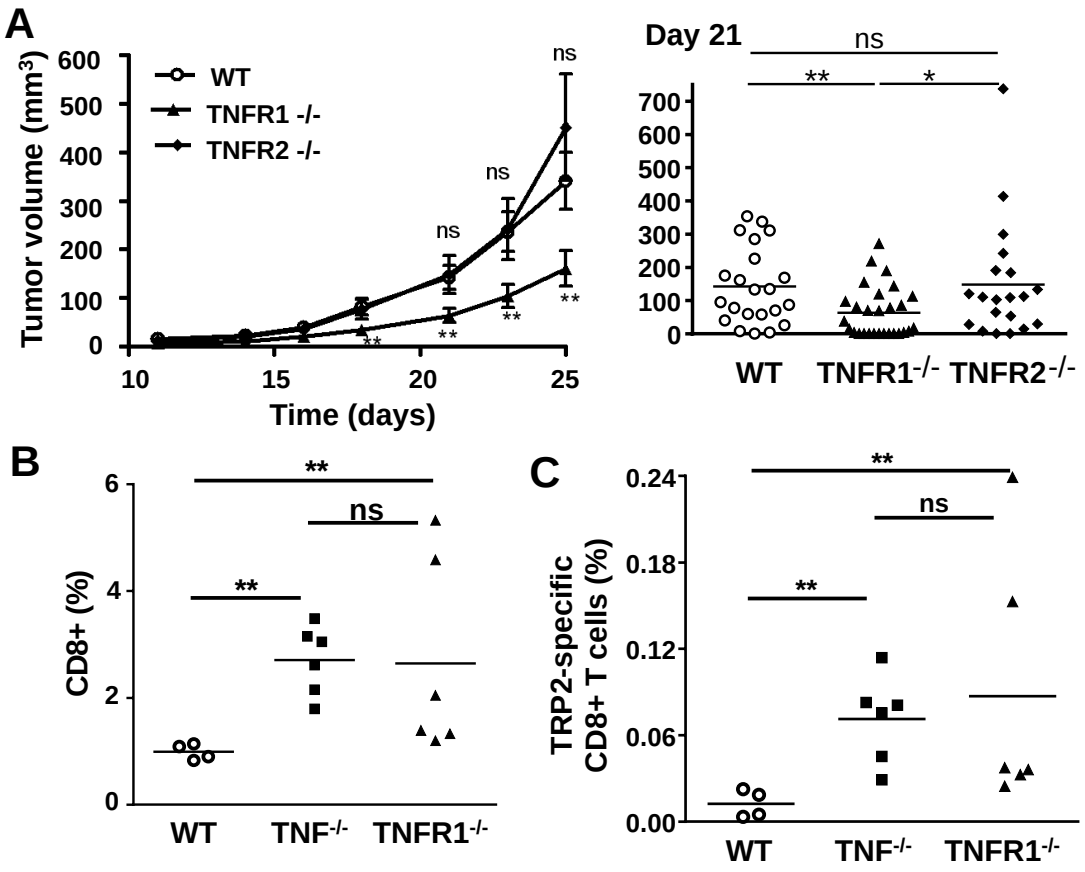


Figure 29. Le déficit en TNFR1 réduit la tumorigenèse et augmente les LT CD8+ dans les tumeurs B16K1

A, Les cellules B16K1 sont injectées chez des souris sauvages (WT), déficientes en TNFR1 (TNFR1-/-) ou en TNFR2 (TNFR2-/-). La tumorigenèse est évaluée par mesure des tumeurs avec un pied à coulisse. B et C, Analyse par cytométrie en flux des LT CD8+ infiltrant la tumeur 12 jours après l'injection de cellules B16K1 chez des souris WT, déficientes en TNF (TNF-/-) ou en TNFR1 (TNFR1-/-).
Extrait de [190]

La densité des vaisseaux HEV est augmentée chez les souris déficientes en TNFα

La densité de vaisseaux à endothélium haut (HEV, *high endothelial venule*) est associée à une augmentation de l'infiltration des LT CD8+ dans les tumeurs humaines et murines, y compris les mélanomes[191192193194]. En condition physiologique non inflammatoire, les cellules sanguines circulent sans entrer en contact avec les tissus environnants car l'endothélium constitue une barrière infranchissable entre ces deux territoires. La seule exception est le passage massif de lymphocytes du sang vers les organes lymphoïdes secondaires qui prend place spécifiquement au sein des veinules appelées HEV[195].

Bertrand et ses collègues[190] ont cherché à évaluer si l'infiltration des LT CD8+ était associée à la présence de HEV. Douze jours après l'injection de cellules B16K1 dans les tumeurs B16 développées chez les souris sauvages (WT) ou déficientes en TNFα, alors que seulement 20% des tumeurs de souris WT présentaient des HEV (vaisseaux MECA79+), 65% des tumeurs de souris déficientes en TNFα étaient positives pour MECA79. Ils ont ensuite quantifié le nombre de LT CD8+ qui entouraient les HEV (CD31+ MECA79+) et les vaisseaux non HEV (CD31+ MECA79-). Chez les souris WT et déficientes en TNFα, le nombre de LT CD8+ est plus élevé à proximité des vaisseaux HEV qu'autour des vaisseaux non HEV (CD31+ MECA79-), ce qui suggère que les HEV des tumeurs sont fonctionnels et facilitent l'infiltration des LT CD8+ (*figure 30)*. De plus, chez les souris WT, une seule injection d'etanercept a déclenché une augmentation du contenu en HEV et en TIL CD8+ dans les tumeurs de mélanome.

Le TNFα semble donc limiter le contenu en HEV des tumeurs mélaniques, ce qui peut contribuer à diminuer l'accumulation des TIL CD8+ chez les souris WT en comparaison aux souris déficientes en TNFα.

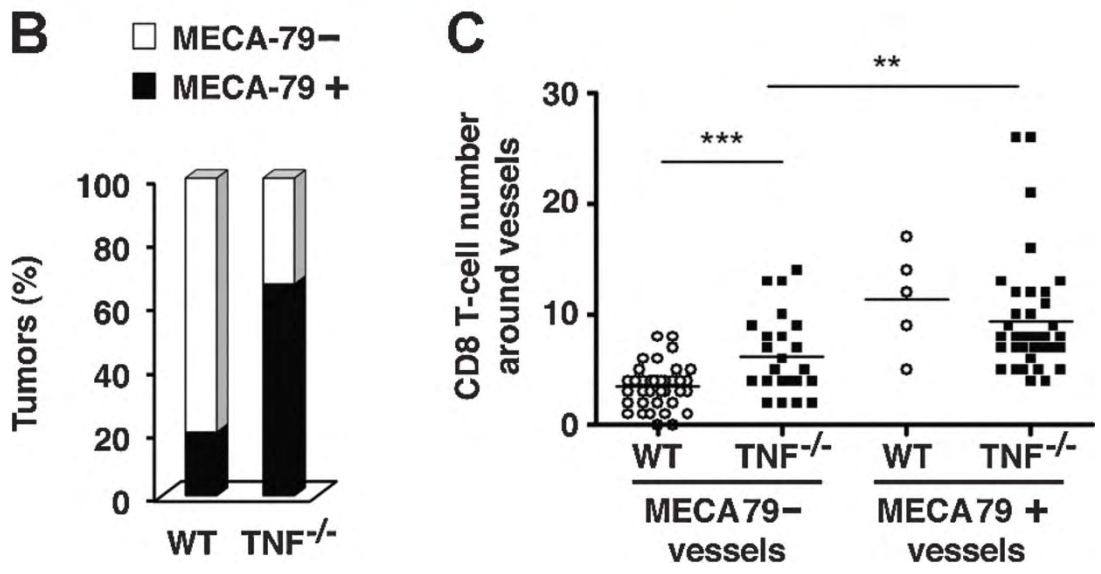


Figure 30. Infiltration lymphocytaire et analyse des HEV dans les tumeurs de mélanome de souris sauvages ou déficientes en TNF

Douze jours après l'injection de cellules B16K1 chez des souris sauvages (WT) et déficientes en TNF (TNF-/-), les tumeurs sont collectées et marquées avec MECA79, un anticorps dirigé contre un glycotope exprimé par les HEV, et un anti-CD8. B, fréquence des tumeurs MECA79+. C, le nombre de cellules T CD8 + présentes dans une région de 100 µm de diamètre autour des vaisseaux HEV et non HEV est quantifié.

Extrait de [190]

Les LT CD8+ infiltrant la tumeur conservent un potentiel cytotoxique chez les souris déficientes en TNFα

Étant donné que le TNFα a été initialement décrit pour sa capacité à tuer des cellules cancéreuses[161], il est important d'évaluer l'impact du déficit en TNFα sur l'activité cytotoxique des LT vis-à-vis des cellules de mélanome. Ceci a été évalué par Bertrand *et al.*[190] par co-culture de cellules de rates de souris sauvages ou déficientes en TNFα avec des cellules B16K1. Après 4 heures de co-culture, la mort des cellules B16K1 est comparable dans les deux conditions expérimentales, suggérant que le TNFα ne joue pas un rôle dans la cytotoxicité à médiation cellulaire des LT CD8+ vis-à-vis des cellules B16K1. En accord avec cette hypothèse, l'incubation de cellules B16K1 avec du TNFα recombinant n'altère pas la prolifération de cellules de mélanome B16 *in vitro*[190]. De plus, le déficit en TNFα provoque une augmentation

de la proportion des LT CD8+ producteurs de granzyme B, prouvant que malgré l'absence de TNFα, les **TIL CD8+ conservent un potentiel cytotoxique**[196].

Le TNFα déclenche la mort cellulaire induite par l'activation (AICD) des LT CD8+

Nous avons vu précédemment que les LT CD8+ activés expriment le TNFR1 et la signalisation qui résulte de la liaison du TNFα à ce récepteur induit un processus d'apoptose des cellules, appelé activation-induced cell death (AICD) limitant ainsi probablement la durée de la réponse immunitaire[197].

Cette théorie a d'abord été démontrée dans les publications de Bertrand et al: *In vitro*[190], la mort des LT CD8+ induite par le TNFα est associée à l'activation d'une protéine impliquée dans l'apoptose, la caspase-3. Un déficit en TNFR1 altère la mort cellulaire induite par le TNFα exogène et l'activation de la caspase-3 dans les LT CD8+ activées (*figure 31)*. En revanche, un déficit en TNFR2 affecte de manière marginale la mort cellulaire induite par le TNFα dans les LT CD8+ activés. Ces résultats suggèrent que la mort des LT CD8+ activés déclenchés par le TNFα, principalement de manière dépendante du TNFR1, contribue à l'inhibition de la réponse immunitaire des LT CD8+ chez les souris sauvages (*figure 31)*.

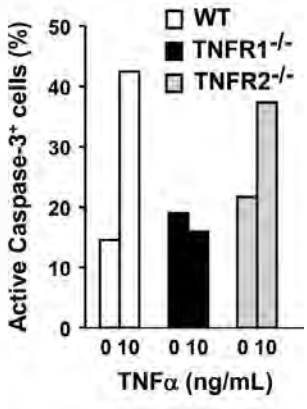


Figure 31. Un déficit en TNFR1 altère la mort cellulaire induite par le TNFα exogène et l'activation de la caspase-3 dans les LT CD8+ activées

Les LT CD8+ activés de souris sauvages, déficientes en TNFR1 ou en TNFR2 sont incubés en présence ou en l'absence de10 ng/mL de TNF pendant 72 heures. Les cellules perméabilisées sont marquées avec un anticorps anti-caspase-3 clivé et analysé par cytométrie en flux.Extrait de[197]

Et *in vivo*[188] , chez les souris traitées par anti-PD-1, le déficit en TNFα réduit de manière significative la mort des TIL CD8+ et CD4 + (*figure 32)*.

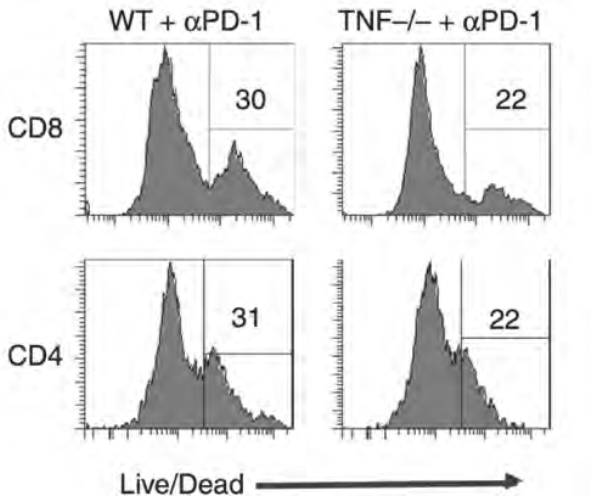


Figure 32. Proportion de TIL CD8 + et CD4 + morts chez des souris sauvages (WT) ou déficientes en TNF (TNF-/-) traitées avec de l'anti-PD-1

Extrait de[188]

D'autres expériences ont permis de montrer que l'accumulation des TIL chez les souris déficientes en TNFα résulte d'une diminution de la mort par AICD des LT CD8+, plutôt que d'une augmentation de leur prolifération sous traitement par des ICI. Chez des souris porteuses de tumeurs MC38 et avec une colite induite par le DSS traitées par ICI, les anti-TNFα augmentent la viabilité des LT CD8+ dans la tumeur et dans les ganglions lymphatiques drainant les tumeurs[142]. Cela confirme **le rôle du TNFα dans l'induction de l'AICD des TIL CD8+ lors de la thérapie combinée anti-PD-1 et anti-CTLA-4 chez la souris**.

Déplétion des LT CD8+ chez la souris

Pour évaluer si un déficit en TNFα de l'hôte altère la croissance des cellules de mélanome en augmentant les TIL CD8+, des LT CD8+ ont été appauvries à la fois chez les souris déficientes en TNFα et WT. L'injection d'anticorps anti-CD8 a appauvri efficacement les LT CD8+ et a complètement restauré la croissance tumorale B16K1 chez les souris déficientes en TNFα. Cela confirme que les effets du TNFα favorisant le mélanome reposent sur l'inhibition de la réponse immunitaire dépendante des LT CD8+[190] (*figure 33)*.

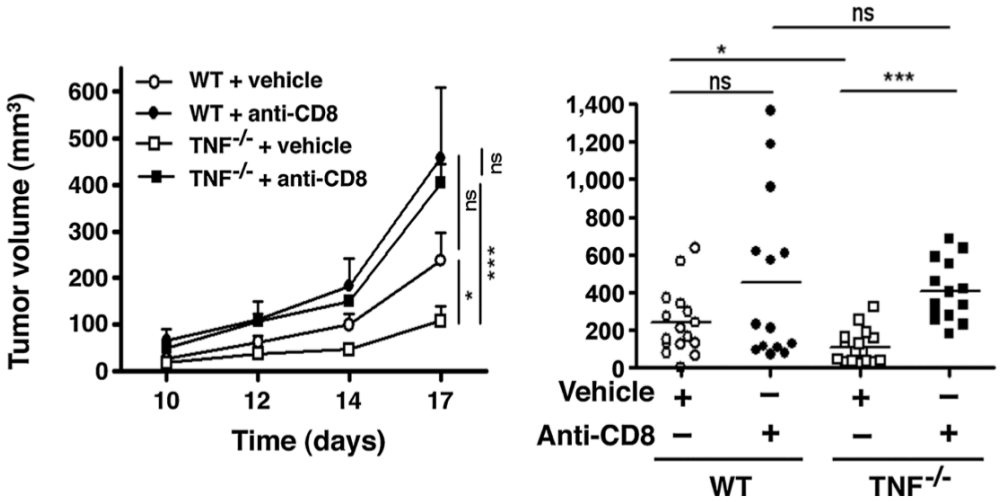


Figure 33. Impact de la déplétion des lymphocytes T CD8 sur la croissance du mélanome chez les souris déficientes en WT et en TNF

Des souris sauvages (WT) déficientes en TNF (TNF-/-) ont reçu une injection tous les trois jours de PBS (véhicule) ou un anticorps anti-CD8. Le volume tumoral a été évalué aux jours indiqués. À gauche, les données sont moyennes +/- ESM de trois expériences indépendantes et incluent 7 à 8 souris par groupe. À droite, les valeurs mesurées au jour 17 pour les tumeurs individuelles sont indiquées. Extrait [190]

La signalisation du TNFα dépendante du TNFR1 de l'hôte altère l'accumulation des LT CD8+ infiltrant la tumeur dans le mélanome de souris, facilitant ainsi l'échappement immunitaire des cellules de mélanome. Un déficit génétique en TNFα (ou de son récepteur, le TNFR1) ou sa neutralisation pharmacologique dans un modèle de mélanome murin s'accompagne d'une augmentation de la réponse immunitaire impliquant l'accumulation dans les ganglions drainant la tumeur et les tumeurs des LT CD8+ par diminution de l'AICD. L'inhibition du TNFα améliore donc la réponse immunitaire de manière dépendante des LT CD8+, limitant la progression du mélanome.

Il est à noter que l'AICD des TIL CD8+, dépendante du TNFα et déclenchée par les anti-PD-1, s'observe uniquement dans les cellules qui co-expriment à leur surface PD-1 et TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3), un point de contrôle immunitaire secondaire, impliqué dans la résistance acquise aux ICI[188].

Expression de TIM-3 et PD-L1

L'expression de PD-L1 par les cellules tumorales ou les cellules du microenvironnement tumoral et de TIM-3 par les TIL semble joue un rôle causal dans les mécanismes de résistance aux ICI. Au sein de nombreuses tumeurs, les LT CD8+ co-exprimant PD-L1 et TIM-3 perdent leur fonctionnalité et sont de mauvais pronostic. De plus, TIM-3 apparaît comme un biomarqueur de résistance au blocage de l'axe PD-1/PD-L1. TIM-3 et PD-L1 atténuent donc la réponse immunitaire à médiation cellulaire anti-tumorale et déclenchent la tolérance périphérique[198 199].

Le TNFα stimule l'expression de TIM3 et PD-L1

Tandis que TIM-3 altère la réponse des LT CD8+ dans le mélanome en jouant un rôle majeur dans les mécanismes d'échappement immunitaire[200], le TNFα contribue à l'augmentation de l'expression de TIM-3 de manière dépendante du TNFR1[188] (*figure 34)*.

Il a aussi été démontré que le TNFα favorise l'expression de PD-L1 à la surface des cellules cancéreuses[201], y compris des cellules de mélanome[202], contribuant aux mécanismes d'immunosuppression.

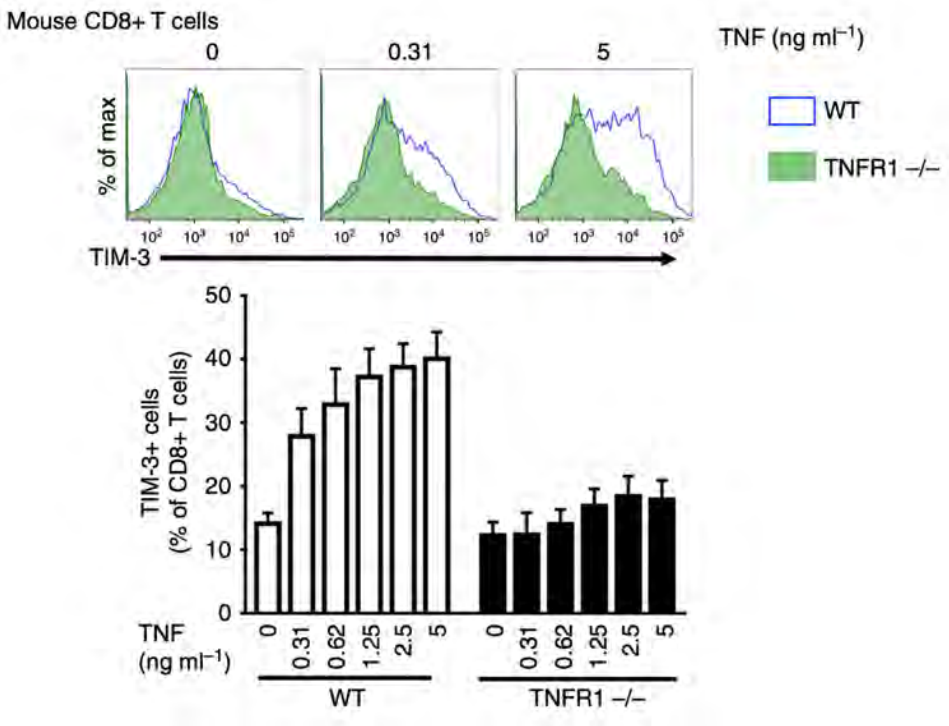


Figure 34. Le TNF induit l'expression de TIM-3 sur les cellules T CD8 +

Des LT CD8 + déficientes en TNFR1ou sauvages (WT) ont été activées et incubées avec du TNF pendant 2 jours. L'expression de TIM-3 a ensuite été analysée par cytométrie en flux.

Extrait de

Les anti-PD1 augmentent l'expression de TIM-3 et de PD-L1 de manière dépendante du TNFα

Chez les souris WT, le traitement anti-PD-1 augmente l'expression de PD-L1 et de TIM-3 par les CD4+ et CD8+ TILs impliqués dans l'échappement immunitaire. Le déficit en TNFα abolit totalement la régulation positive de PD-L1 et TIM-3 sur les TIL lors d'un traitement anti-PD-1, suggérant que leurs expressions déclenchées par anti-PD-1 est dépendante du TNFα[188]. Cette diminution d'expression de TIM-3 et PD-L1 lors du traitement ne résulte pas de l'internalisation[203] mais de l'expansion sélective de LT CD8+ qui n'expriment pas (ou peu) de PD-L1 et TIM-3[204205] *(figure 35 et 36)*.

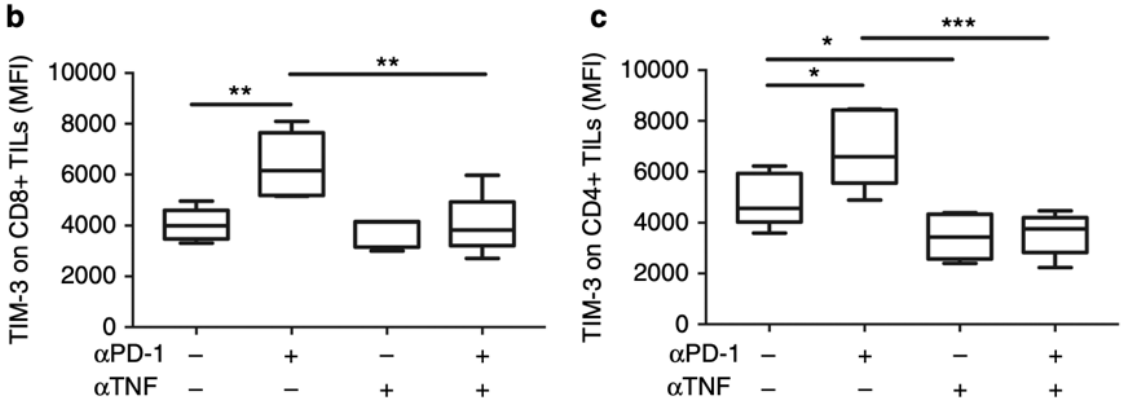


Figure 35. Le blocage du TNF empêche la régulation à la hausse du TIM-3 sur les TIL en réponse à l'anti-PD-1

Le niveau d'expression TIM-3 sur TIL CD8 + (b) et TIL CD4 + (c) est déterminé par cytométrie en flux sur des tumeurs de souris sauvages au jour 10 après la greffe de B16K1 et injection du véhicule (PBS), des anti-PD-1 (αPD-1), des anti-TNF (αTNF) ou une combinaison des deux. L'intensité de fluorescence moyenne (MFI) de TIM-3 sur les TILs CD8+ (b) et CD4 + (c) mesurées dans au moins 5 tumeurs par groupe.
Extrait de[188]

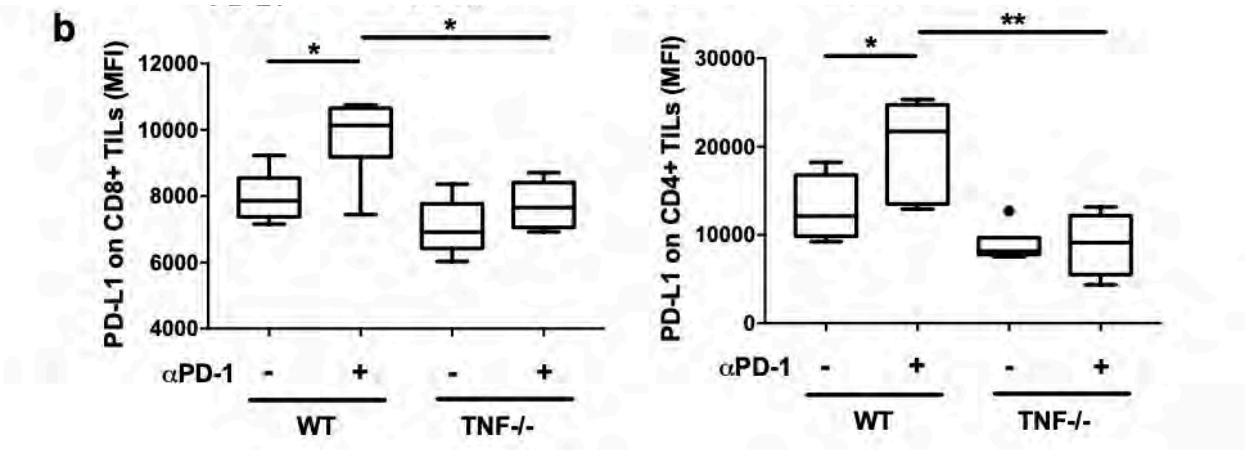


Figure 36. Le TNF induit l'expression de PD-L1 sur les TIL

Des souris sauvages (WT) et déficientes en TNF (TNF-/-) ont été injectées comme décrit dans la légende de la figure 2. Les TIL ont été analysés par cytométrie en flux sur des tumeurs développées 10 jours après la greffe des cellules B16K1. b, moyenne de intensité de fluorescence (MFI) pour PD-L1 sur les TIL CD8+ (Figure de gauche) et CD4+ (Figure de droite).
Extrait de[188]

L'effet du TNFα exogène sur les TIL CD8+ purifiées à partir d'échantillons de mélanome humain a été analysé par Bertrand *et al*[188]. Le TNFα stimule fortement l'expression de TIM-3 sur les TIL CD8+, y compris dans des modèles de co-culture autologue avec des cellules de mélanome. Cette dernière observation renforce l'hypothèse selon laquelle le TNFα est un inducteur de TIM-3 à la surface des TIL.

Le TNFα semble donc requis pour l'expression de TIM-3 et de PD-L1 induite par l'anti-PD-1 sur les CD8+ et CD4+ TILs. TIM-3 altère la réponse thérapeutique à l'anti-PD-1 dans des modèles murins de cancer [198200206207]**. Ainsi, l'inhibition de TNFα bloque l'augmentation de l'expression membranaire de TIM-3 sur les TIL CD8+ en réponse aux anti-PD-1, facilitant la réponse thérapeutique dans le mélanome expérimental.**

ÉTUDES *IN SILICO* SUR DES BIOPSIES DE MELANOME HUMAIN

Des analyses de bio-informatique indiquent également que l'expression de TNFα dans les biopsies de mélanomes humains est associée à une signature génique d'immuno-échappement qui est corrélée, notamment à l'expression de TIM-3 et de PD-L1[188] . Cette analyse a été réalisée sur des échantillons de biopsies tumorales de patients atteints de mélanome avancé à partir de la banque du TCGA (The Cancer Genome Atlas)[208] . Une signature de gènes d'échappement immunitaire a été mise en évidence dans les échantillons de mélanome présentant une expression élevée de TNFα, suggérant que le TNFα fait partie d'un réseau de gènes permettant l'expression de protéines impliquées dans l'immunosuppression. De plus, l'expression du *TNFA*, codant pour le TNFα, est positivement et significativement corrélée à celles de *HAVCR2*, *PDCD1LG1* et *PDCD1LG2* codant respectivement pour TIM-3, PD-L1 et PD-L2. Une autre analyse de données publiées[209] montre une forte corrélation positive et significative entre l'expression de *TNFA*, *HAVCR2*, *PDCD1LG1* et *PDCD1LG2* dans les échantillons de mélanome de patients traités par anti-PD-1 (*figure 39)*.

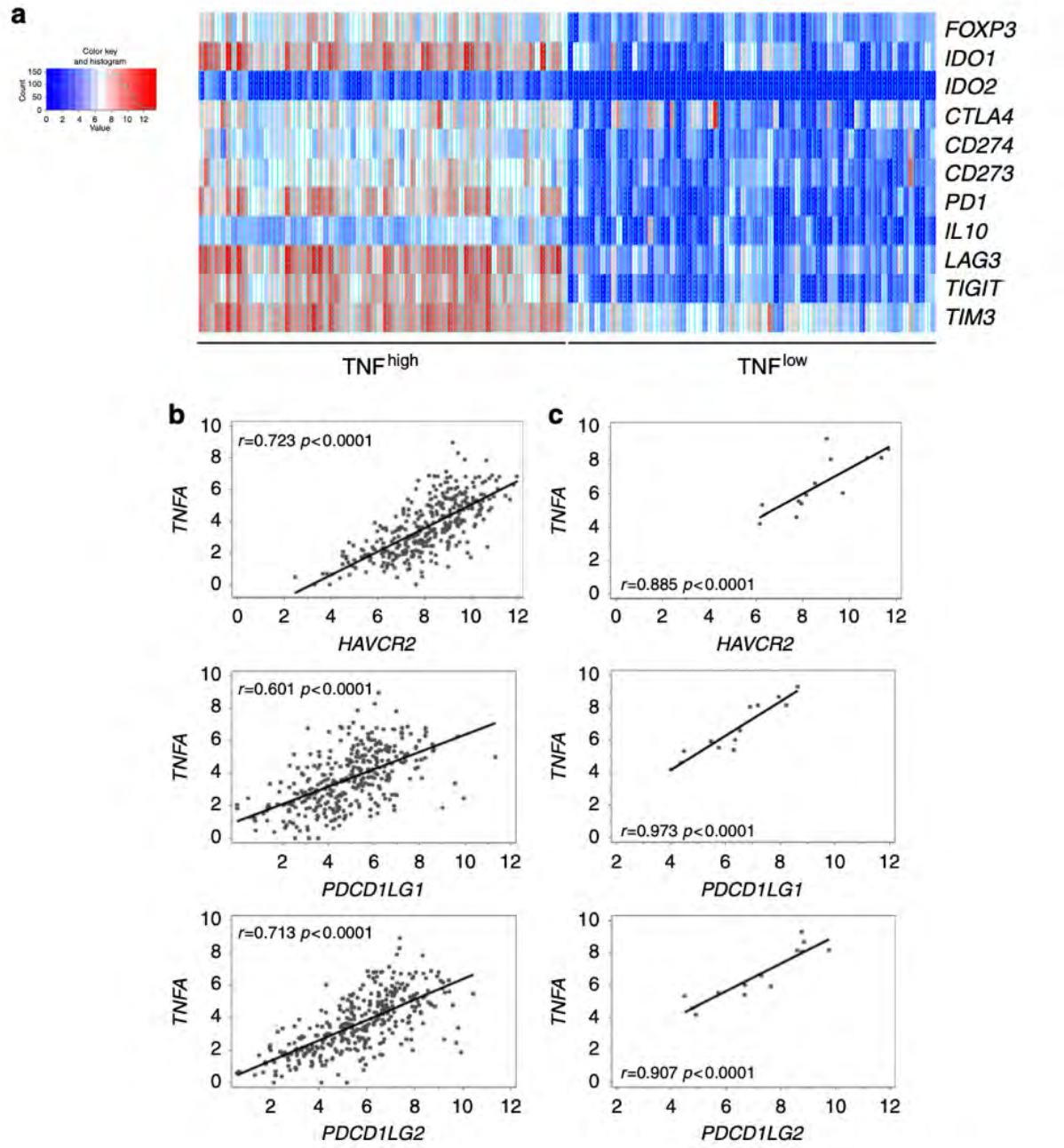


Figure 37. L'expression du TNF est associée à une signature du gène d'échappement immunitaire dans le mélanome métastatique humain

a, Une carte thermique pour une liste sélectionnée de gènes codant pour des protéines d'échappement immunitaires chez des patients atteints de mélanome métastatique de la cohorte de mélanome TCGA (n = 342), présentant une expression de TNF élevée (80e percentile) et faible (20e percentile) dans les échantillons de mélanome. b et c. Analyse de corrélation entre l'expression de HAVCR2 (codant TIM-3), PDCD1LG1 (codant PD-L1), PDCD1LG2 (codant PD-L2) et TNFA (codant TNF) dans des échantillons de mélanome de patients atteints de mélanome métastatique de la cohorte TCGA (n = 342) (b) et de patients traités par anti-PD-1 (n = 13) (c).

Extrait de[200]

L'ensemble des résultats montre l'intérêt de l'utilisation d'anti-TNF pour potentialiser les effets thérapeutiques d'anti-PD-1 chez les souris porteuses de mélanome. Ces études suggèrent fortement que la signalisation TNFα dépendante du TNFR1 constitue un puissant mécanisme d'échappement immunitaire aux LT CD8+, conférant une résistance aux anti-PD-1 en augmentant notamment l'expression de TIM-3 à la surface des TILs et en induisant leur mort par un mécanisme d'AICD *(figure 38)*.

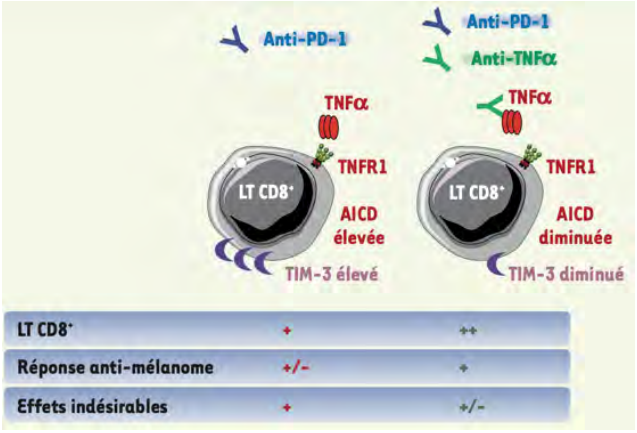


Figure 38. Les anti-TNFα augmentent la réponse des anti-PD-1 contre le mélanome

Le TNFα est produit par les LT CD8+ qui infiltrent les tumeurs de mélanome. La signalisation du TNFR1 freine l'accumulation de ces lymphocytes, facilitant l'échappement immunitaire des cellules de mélanome. Le traitement par un anti-PD-1 s'accompagne d'une activation lymphocytaire associée, entre autres, à la production de TNFα dans le microenvironnement tumoral. Le TNFα conduit à l'augmentation de l'expression à la surface des LT CD8+ de TIM-3 et à la mort cellulaire des LT par AICD, ce qui limite la réponse thérapeutique des anti-PD-1 contre les mélanomes.
Extrait de [196]

PARTIE 4
ESSAI CLINIQUE **TICIMEL** CHEZ DES PATIENTS ATTEINTS DE MELANOME AVANCE

Pour synthétiser, nous avons vu dans les parties précédentes que les ICI favorisent une production de TNFα dans le microenvironnement tumoral de l'hôte qui contribue :

- Aux événements indésirables d'origine immunologique dont la colite pouvant provoquer le décès du patient
- A l'échappement immunitaire du mélanome donc à la résistance acquise aux immunothérapies anti-mélanome par :
    - La dédifférenciation des cellules mélanocytaires
    - L'inhibition de l'infiltration et de la survie des LT CD8+ ciblant le mélanome
    - Le processus de l'AICD dans les CD8+ TIL
    - L'expression des molécules immunosuppressives PD-L1 et TIM-3 sur les LT infiltrant les tumeurs et / ou cellules cancéreuses

L'ensemble des résultats pré-cliniques indiquent que le blocage concomitant du TNFα avec la double thérapie anti-CTLA-4 et anti-PD-1 chez la souris (i) prévient les irAEs telles que la colite TNFα-dépendante, (ii) améliore la réponse anti-tumorale et (iii) augmente la survie globale par rapport au traitement par ICI seul. Les stratégies anti-TNFα pourraient exercer, au moins, trois effets bénéfiques sur le mélanome humain :

- Empêcher la dédifférenciation des cellules de mélanome
- Limiter l'AICD des LT CD8+ et donc augmenter la viabilité des LT CD8+ dans le microenvironnement tumoral et dans les ganglions lymphatiques
- Limiter l'accumulation et l'activité biologique des cellules immunosuppressives comme les LT régulateurs et les MDSC
- Diminuer l'expression de molécules immunosuppressives telles que PD-L1 et TIM-3

Alors que de tels mécanismes restent à démontrer chez l'Homme, le blocage concomitant du TNFα et des ICI pourrait permettre de limiter les irAEs et d'augmenter l'efficacité des ICI. Le TNFα pourrait être considéré comme une cible potentielle en association avec les ICI chez l'Homme pour traiter le mélanome ou d'autres cancers.

Concernant les essais cliniques chez l'Homme, des méta-analyses récentes[210211212213] ont confirmé qu'il n'existait pas de corrélation entre le traitement anti-TNFα et une augmentation de l'incidence du mélanome. Par ailleurs, un essai clinique a montré que le traitement par l'infliximab était sûr et bien toléré chez les patients atteints de cancer avancé avec une stabilisation de la progression de la maladie chez deux patients traités par des anticorps anti-TNFα[214]. Une stabilisation prolongée de la maladie a été notée chez un patient qui avait un cancer du côlon métastatique précédemment traité avec trois lignes de chimiothérapie. Ce patient a reçu un total de 12 doses d'infliximab et sa maladie s'est stabilisée pendant 50 semaines. Un autre patient avec un mélanome métastatique n'ayant reçu aucune chimiothérapie antérieure, a présenté une amélioration significative des symptômes systémiques pendant la durée du traitement (9 doses de 10 mg/kg d'infliximab).

L'ensemble de ces études constitue le rationnel scientifique de l'essai clinique de phase Ib TICIMEL (TNF-Inhibitor as Immune Checkpoint Inhibitor for Advanced MELanoma) (NCT03293784) visant à évaluer l'innocuité et l'efficacité des anti-TNFα administrés en concomitance avec nivolumab et ipilimumab chez des patients atteints de mélanome avancé.

L'essai a débuté en décembre 2017 à l'Oncopole de Toulouse (promoteur : Institut Claudius Regaud) financé par Bristol-Myers Squibb, et dirigé par le Pr N. Meyer, oncodermatologue au

le centre de cancérologie de Toulouse. Il s'agit d'une étude de phase Ib, non randomisée et monocentrique. Dans l'essai TICIMEL, 30 patients atteints de mélanome métastatique avancé ont été (ou seront) traités afin d'étudier les effets de l'administration simultanée d'ipilimumab (anti-CTLA-4), nivolumab (anti-PD-1) et anti-TNFα (infliximab ou certolizumab) sur les irAEs et l'immunité anti-tumorale.

Objectif de l'essai TICIMEL

Objectif principal

L'objectif principal est d'évaluer pour la première fois **l'innocuité** et la **tolérabilité** de l'association concomitante du traitement du mélanome métastatique par des ICI (ipilimumab+nivolumab) associés à un agent anti-TNFα (infliximab ou certolizumab) chez les patients atteints de mélanome métastatique.

Le critère d'évaluation principal est la toxicité limitant la dose (DLT). Les effets indésirables ont été classés selon les Critères de terminologie communs des effets indésirables version V4.03 du National Cancer Institute (NCI CTCAE) et attribués comme liés, ou non, au traitement de l'étude par l'investigateur.

Objectifs secondaires

Les objectifs secondaires de l'étude sont d'évaluer l'activité anti-tumorale en déterminant la survie sans progression et le réponse objective (une réponse complète ou partielle, selon RECIST version 1.1). Pour les aspects pharmacodynamiques, l'activation immunitaire systémique et associée à la tumeur est évaluée avant et pendant les cycles de traitement. Les réponses tumorales sont évaluées toutes les 12 semaines pendant 2 ans ou jusqu'à la progression de la maladie.

Critères d'inclusion et de non-inclusion

Inclusion

- Age ≥ 18 ans et ≤ 70 ans
- Mélanome métastatique ou non résécable prouvé histologiquement (stage IIIc-IV, M1a-c d'après l'AJCC 2009)
- Statut de la mutation $BRAF^{V600}$ doit être documenté
- Maladie mesurable selon les critères RECIST 1.1
- Indice de performance ≤ 1 (OMS)
- Espérance de vie ≥ 3 mois
- Fonction hématologique : polynucléaires neutrophiles ≥ $1,5x10^9$/L, globules blanc ≥ 2 x 109/L, plaquettes ≥ 100 x 109/L, hémoglobine > 9 g/dL
- Fonction hépatique : transaminases ≤ 3 x LNS
- Fonction rénale : créatinine ≤ 1,5 x N ou clairance de la créatinine ≥ 40 mL/min (Cockroft-Gault)
- Fonctions cardiaque et respiratoire adéquates, selon New York Heart Association (NYHA) class 1 and SaO2 > 90%
- Patient naïf de traitement pour les métastases
- Traitement antérieur par radiothérapie ou chirurgie terminé au moins 4 semaines auparavant
- Contraception efficace
- Patient affilié à la sécurité sociale
- Consentement éclairé signé

Non inclusion

- Mélanome uvéal
- Métastase intracrânienne
- Antécédent de traitement avec des inhibiteurs BRAF ou MEK dans les 12 semaines avant le début de l'étude
- Hypersensibilité au nivolumab, à l'ipilimumab, au certolizumab ou à l'infliximab
- Toute condition nécessitant un traitement systémique avec des corticoïdes ou d'autres médicaments immunosuppresseurs
- Dysfonction cardiaque
- Antécédent d'autre maladie maligne active dans les 3 ans
- Tuberculose non traitée ou test quantiféron positif
- Antécédent actif ou récent d'une maladie auto-immune connue ou soupçonnée
- Test positif pour les virus de l'hépatite B ou de l'hépatite C indicateur d'une infection aiguë ou chronique
- Sérologie VIH positive connue ou SIDA connu
- Vaccination dans les 3 mois précédent le début de l'étude
- Toute maladie grave ou incontrôlée, une infection en cours ou active
- Patient inclus dans un autre protocole expérimental
- Patient sous tutelle ou curatelle

Design de l'essai TICIMEL

TICIMEL est divisé en 2 parties consécutives, la première partie étant menée en 2 cohortes parallèles pour évaluer le profil de sécurité de l'association nivolumab et ipilimumab avec des anti-TNFα. Pour un anti-TNFα donné, une cohorte initiale de 3 patients sont inclus à la dose unique. S'il n'y a pas de DLT ou une seule DLT, trois autres patients sont inclus. Si pas plus

d'un patient sur 6 présente un DLT, l'association (ICI + anti-TNF) est considérée comme sûre et permet de poursuivre la deuxième partie de l'essai. La thérapie combinée choisie pour la deuxième partie de l'étude (étude d'expansion de cohorte) dépend des données de sécurité, d'activité et de pharmacodynamie de la première partie de TICIMEL avec un petit nombre de patients avec le traitement qui a le meilleur profil de tolérance (nivolumab et ipilimumab en IV associé au certolizumab ou infliximab)

Le schéma thérapeutique se déroule en 2 phases (*figure 39*) :

- Phase 1 d'induction : co-administration toutes les 3 semaines des anticorps anti-points de contrôle de la réponse immune (3 mg/kg d'ipilimumab et 1 mg/kg de nivolumab) et de l'un des deux anti-TNFα (5 mg/kg d'infliximab ou 200 - 400 mg de certolizumab)
- Phase 2 d'entretien avec co-administration toutes les 2 semaines de nivolumab (3 mg/kg) et de l'un des deux anti-TNFα (5 mg/kg d'infliximab toutes les 8 semaines ou 200 mg de certolizumab toutes les 2 semaines).

Les patients sont répartis alternativement dans l'une des deux cohortes parallèles :

- Cohorte 1 : durant la phase d'induction, les patients reçoivent du nivolumab (perfusion de 60 min) et de l'ipilimumab en IV (perfusion de 90 min), ainsi que du certolizumab par voie sous-cutanée (SC) toutes les 3 semaines, pendant 4 cures. Durant la phase d'entretien, les patients reçoivent du nivolumab en IV et du certolizumab SC toutes les 2 semaines.
- Cohorte 2 : durant la phase d'induction, les patients reçoivent du nivolumab et de l'ipilimumab en IV, toutes les 3 semaines, pendant 4 cures, ainsi que de l'infliximab en IV (perfusion de 120 min) toutes les 3 semaines, pendant 3 cures. Durant la phase d'entretien, les patients reçoivent du nivolumab en IV et de l'infliximab en IV toutes les 2 semaines.

Avant induction (T0), 6 semaines (T1) et 12 semaines (T2) après induction, un prélèvement sanguin et/ou une biopsie tumorale sont effectués pour permettre l'analyse de l'évolution de la réponse immunitaire chez les patients. Les patients sont suivis pour l'évaluation de la sécurité et de l'efficacité des traitements à 30, 60 et 100 jours après la dernière dose administrée, puis jusqu'à 2 ans après la première dose administrée. Lors des phases d'induction et d'entretien, les médecins effectuent un examen physique et clinique, mesurer la saturation en oxygène, effectuer un ECG et les prises de sang nécessaires pour le suivi de la tolérance des traitements.

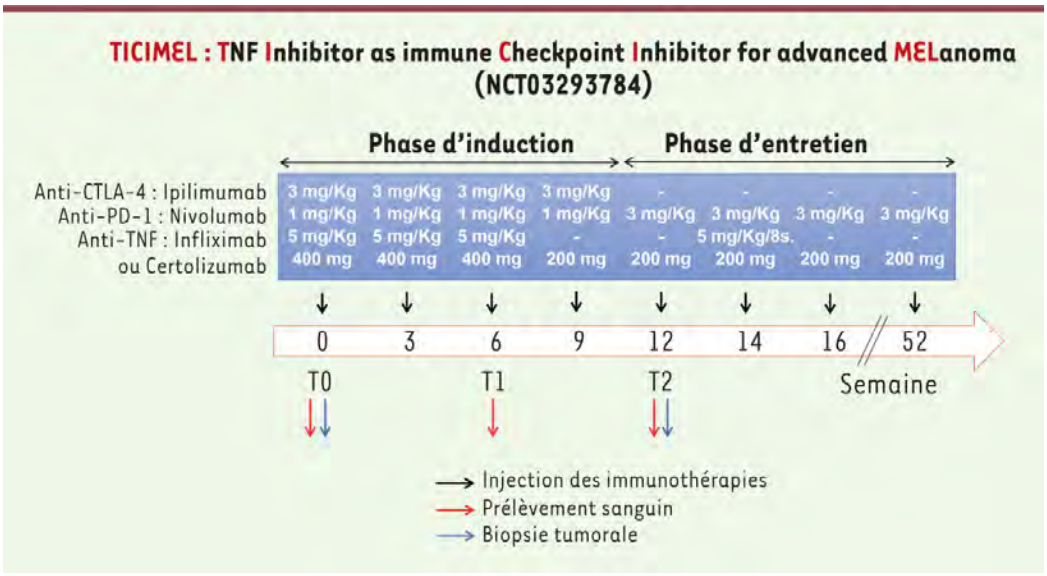


Figure 39. Design de l'essai clinique TICIMEL

Extrait de [196]

14 patients atteints de mélanome métastatique ont donc été recrutés entre janvier 2018 et septembre 2019 : 8 dans la cohorte certolizumab et 6 dans la cohorte infliximab ayant les caractéristiques présentées dans le Tableau 3.

Sexe (N = 14)	**Certolizumab N(%)**	**Infliximab N(%)**
Masculin	5 (62,5)	5 (83,3)
Femme	3 (37,5)	1 (16,7)
Âge à l'inclusion (N = 14)		
Médian	49.5	61
Intervalle	(33/73)	(50/75)
LDH (U / L) (N = 14)		
Ordinaire	2 (25)	3 (50)
ANCS	6 (75)	3 (50)
Stade AJCC au dépistage (N = 14)		
Stade IIIc	2 (25)	2 (33)
Stade IV	6 (75)	4 (66,7)
Nombre de sites métastatiques (si stade IV au dépistage) (N = 10)		
1 site	1 (16,7)	0 (0)
2 sites	2 (33,3)	2 (50)
3 sites	2 (33,3)	2 (50)
5 sites	1 (16,7)	0 (0)
BRAF V600 (N = 14)		
Muté	5 (62,5)	1 (16.7)
NRAS (N = 13)		
Muté	1 (14,3)	1 (16,7)
Manquant	1	0
Traitement adjuvant antérieur (N = 14)		
Non	8 (100)	5 (83.3)
Oui	0 (0)	1* (16,7)

Tableau 3. Caractéristiques démographiques et de base des patients de l'étude TICIMEL

(*un patient a reçu de l'interféron alpha dix ans avant l'inclusion)

Extrait de l'étude TICIMEL[215]

PREMIERS RESULTATS DE L'ESSAI TICIMEL

	Cohorte CERTOLIZUMAB N=8	**Cohorte INFLIXIMAB N=6**
Durée médiane du suivi	13,3 mois (IC_{95} 2,9-19,9) au 6 décembre 2019	
Durée médiane de traitement	33 jours	64 jours
Nombre médian de cycles de traitement	2,5	4 nivolumab + ipilimumab et 3 d'infliximab
Principale cause d'arrêt du traitement	Effets indésirables N=6 (75%) *	Progression de la maladie (N = 3) et toxicité (N = 2)
Évaluation de sécurité		
Patients présentant des irAEs liés au traitement de tout grade	13 / 14 (92,9%)	
	7 (87,5%)	6 (100%)
Patients présentant des irAEs liés au traitement de grade 3/4	9 (64,3%)	
	6 (75%)	3 (50%)
DLT	0	1 *Altération de la fraction d'éjection ventriculaire gauche au cours d'une infection pulmonaire*
Nombre médian liés d'irAEs au traitement	11	3
Évaluation de l'efficacité		
Patients avec réponse objective selon les critères RECIST - Réponse complète - Réponse partielle - Réponse après un an de suivi *(Figure 41)*	6 (100%) + *1 non évaluable* 3 3 4	3 (50%) 1 2 1

* Un patient, avec une maladie très agressive, a été retiré du protocole en raison de la progression de la maladie après deux injections et a reçu des inhibiteurs de BRAF et de MEK avant la fin de la période d'évaluation du DLT. Ce patient a été considéré comme non évaluable pour la DLT et l'activité anti-tumorale

Tableau 4. Synthèse des premiers résultats de l'étude TICIMEL

(d'après[215])

Quelque soient leur grade et leur gravité, les principales toxicités liées au traitement observées dans les deux cohortes comprennent des troubles généraux, comme présenté figure 40, ainsi que des irAEs affectant le système gastro-intestinal (diarrhée, nausées, colite) ou affectant le système hépatobiliaire principalement dans la cohorte certolizumab. Globalement, le nombre de patients présentant au moins un effet indésirable lié au traitement est plus faible dans la cohorte infliximab que dans la cohorte certolizumab sauf pour les troubles gastro-intestinaux. Aucun décès lié au traitement n'a été observé au cours de cette première période d'étude.

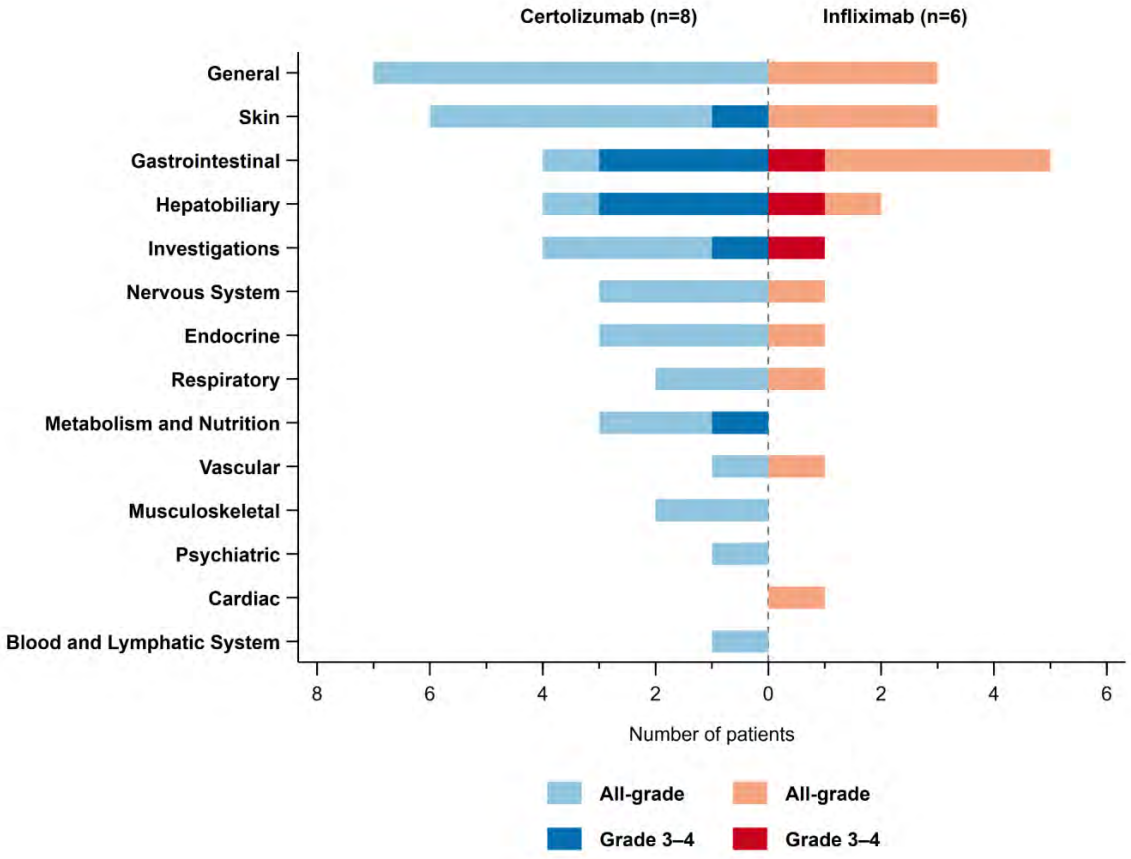


Figure 40. Événements indésirables liés aux traitements
Nombre de patients présentant des événements indésirables liés au traitement chez les patients atteints de mélanome avancé traités par nivolumab et ipilimumab en association avec le certolizumab ou l'infliximab. Extrait de l'étude TICIMEL[215]

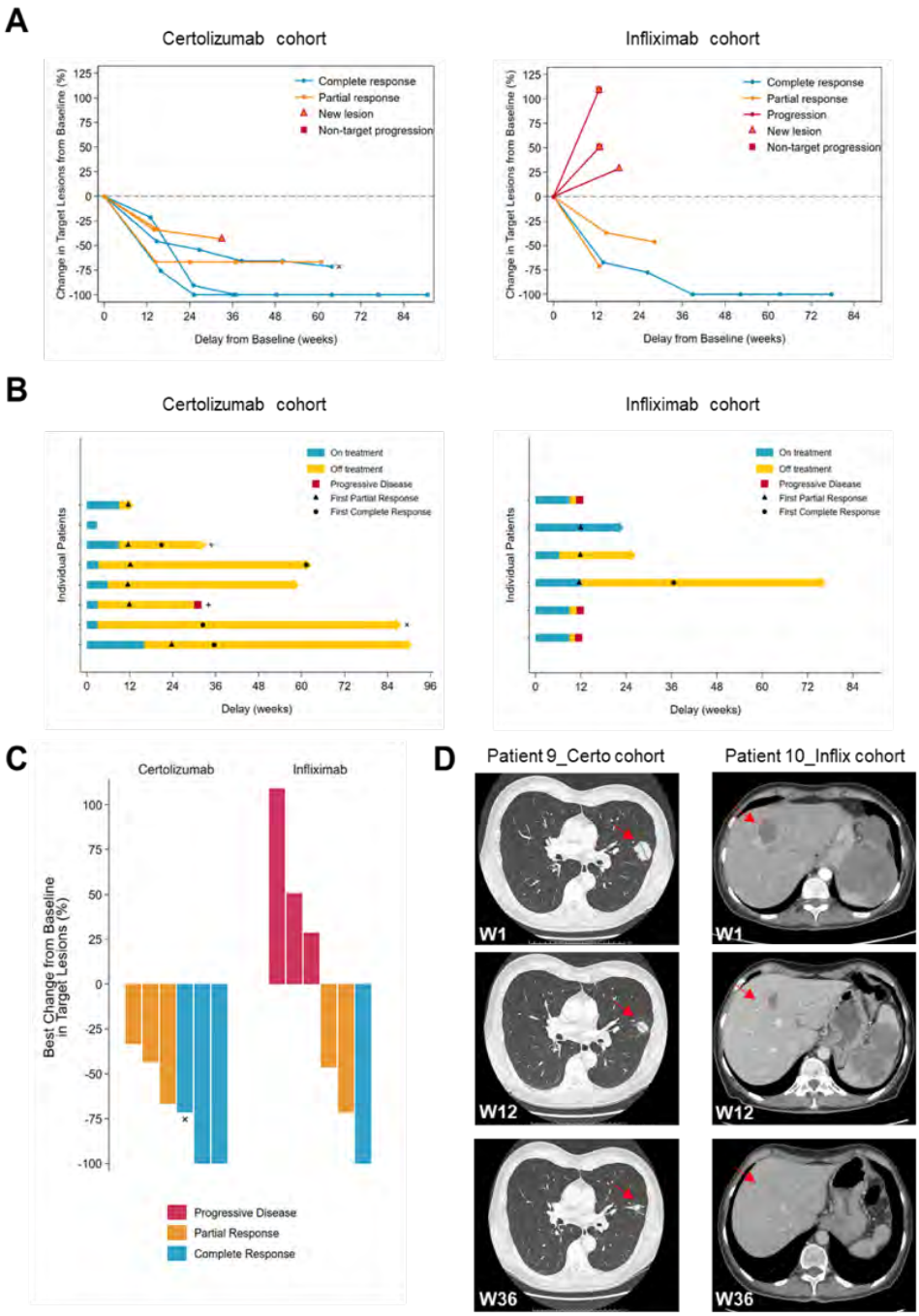


Figure 41. Signes clairs d'efficacité chez les patients traités par nivolumab, ipilimumab et anti-TNF

A Évolution de la charge tumorale chez les patients des cohortes certolizumab (figure de gauche) et infliximab (figure de droite) au fil du temps. Un patient en réponse complète de la cohorte certolizumab, qui n'était pas évaluable selon les critères RECIST lors des deux premières évaluations tumorales, n'est pas inclus dans ce graphique. x: réponse complète malgré 2 lésions ganglionnaires persistantes (<10 mm). B Évolution de la réponse chez les patients des deux cohortes au fil du temps. +: patients toujours sous Nivolumab après l'arrêt du traitement à l'étude; x: patient évaluable selon les critères RECIST uniquement à la troisième évaluation. C Meilleure réponse chez tous les patients. x: patient considéré en réponse complète malgré deux ganglions lymphatiques persistants (<10 mm). D Images tomodensitométriques montrant des exemples de régression tumorale cible chez un patient de la cohorte certolizumab avec métastase pulmonaire (patient 9, images de gauche) ainsi que chez un patient de la cohorte d'infliximab avec métastases hépatiques (patient 10, images de droite).
Extrait de TICIMEL[215]

D'après les premières données de TICIMEL, les patients de la cohorte certolizumab développent plus d'irAEs que ceux de la cohorte infliximab. Les profils de toxicité dans les 2 cohortes sont comparables à ceux observés chez les patients traités par ipilimumab et nivolumab. De meilleures réponses cliniques sont observées dans la cohorte certolizumab que dans la cohorte infliximab.

Évaluation des réponses systémiques immunitaires

Il est aussi intéressant d'évaluer comment le certolizumab et l'infliximab affectent les réponses immunitaires systémiques chez les patients. Les analyses ont été réalisées avant (S0) et 6 semaines (S6) après l'induction du traitement.

Nombre de patients	**Cohorte CERTOLIZUMAB N=7**	**Cohorte INFLIXIMAB N=6**
Augmentation du nombre total de lymphocytes *(S6 supérieure à 20% par rapport à S0)*	6 (85,7%)	3 (50%)
Augmentation du nombre de LT CD4+ et CD8+ (*Figure 42*)	5 (71,4%)	2 (33,3%)
Variation nombre et proportion de monocytes circulants	0 (0%)	0 (0%)
Diminution des proportions des MDSC immunosuppresseurs	5 (71,4%) *	6 (100%) *
Augmentation du nombre de LT CD4+ PD1+ IFNγ+ TNF+ *(Figure 43 C et D)*	6 (85,7%)	4 (66,7%)
Augmentation du nombre de LT CD8+ PD1+ IFNγ+ TNF+ *(Figure 43 C et D)*	4 (57,1%)	4 (66,7%)

* combinaison des deux cohortes : significativité de la diminution

Tableau 5. Synthèse de résultats de variation des composantes immunitaires dans l'étude TICIMEL (d'après [215])

Le traitement avec la thérapie ICI combinée à l'infliximab ou au certolizumab a augmenté de manière significative la proportion des cellules apparentées aux Th1 chez tous les patients des deux cohortes. Pour confirmer que la thérapie ICI combinée à l'anti-TNFα favorise les réponses Th1 chez les patients, la production *ex vivo* d'IFNγ et de TNFα par les LT CD4+ après stimulation polyclonale par PMA/ionomycine est évaluée. La plupart des patients des deux cohortes ont présenté une augmentation du nombre systémique de LT PD1+ IFNγ+ TNF+ CD4+ et CD8+ à S6.

Les concentrations plasmatiques d'IFNγ ont augmenté de manière significative dans les deux cohortes, avec 6 patients (46,2%) présentant une augmentation de 10 fois ou plus à S6 (par rapport à S0).

Contrairement à ce à quoi on pourrait s'attendre, les taux de TNFα ne sont pas significativement diminués à S6 (*figure 43 E et F*). Cette dernière observation est potentiellement liée à la forte augmentation dans les deux cohortes de la proportion des Th1 qui contribuent à une production accrue de TNFα. De plus, même si les anti-TNFα, neutralisent le TNFα, ils ne le détruisent pas nécessairement. Dès lors, il paraît important de s'assurer, dans les deux cohortes de patients, que le TNFα plasmatique soit toujours lié aux anti-TNFα. Ceci peut se faire avec une technique de dosage par CBA (Cytometric Bead Arrays) qui détecte le TNFα libre mais pas celui lié à l'infliximab ou au certolizumab. Alternativement, des dosages de l'activité biologique du TNFα plasmatique peuvent être réalisés[216] pour s'assurer que les anti-TNFα permettent, comme attendu, de neutraliser efficacement leur cible. Ces analyses paraissent importantes afin d'écarter un potentiel effet rebond de libération du TNFα initialement neutralisé par les anti-TNFα, pouvant s'expliquer, entres autres, par la réversibilité des liaisons antigène-anticorps.

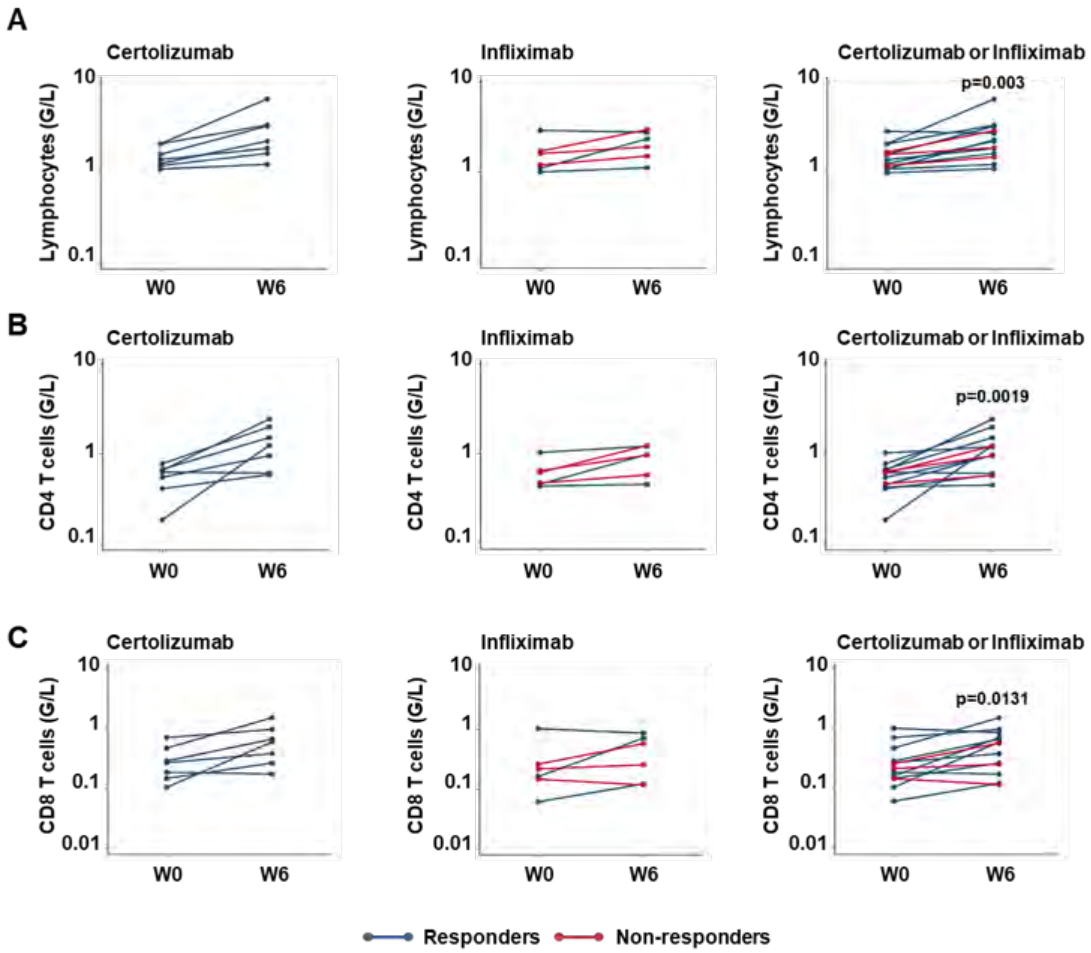


Figure 42. Augmentation du nombre de lymphocytes T dans le sang des patients atteints de mélanome avancé traités par nivolumab et ipilimumab en association avec le certolizumab ou l'infliximab

A-C Le nombre total de lymphocytes, de lymphocytes T CD4 et de lymphocytes T CD8 a été évalué au départ (W0) et 6 semaines (W6) après le début du protocole de traitement. Le nombre total de lymphocytes a été évalué par numération formule sanguine (A) et les taux de lymphocytes T CD4 (B) et CD8 (C) dans le sang des patients ont été évalués par cytométrie en flux. Les nombres de cellules T CD4 et CD8 ont été calculés à partir du nombre total de lymphocytes par patient. En raison du faible nombre de patients, les analyses statistiques n'ont été effectuées que sur les données regroupées des deux cohortes. La réponse clinique mise en évidence a été évaluée à S12.
Extrait de TICIMEL[215]

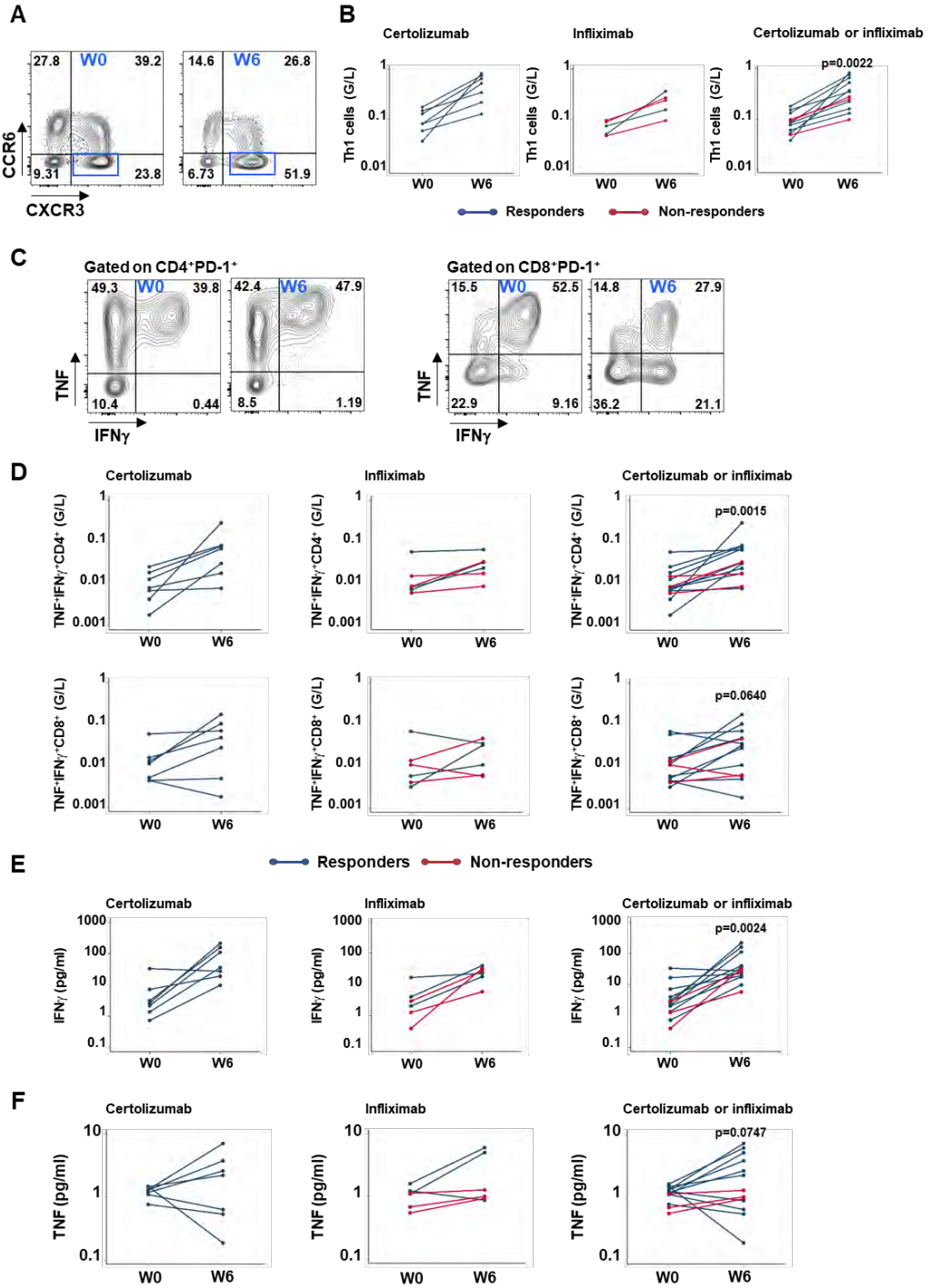


Figure 43. Augmentation du nombre de cellules apparentées aux Th1 dans le sang des patients traités par nivIolumab et ipilimumab associés au certolizumab ou à l'infliximab

A et B. Les cellules apparentées aux Th1 (CD4 + CXCR3 + CCR6-) ont été évaluées sur du sang total de patients avant (W0) et 6 semaines (S6) après le début du traitement. Exemple représentatif de l'analyse du marquage par cytométrie en flux (A) et graphiques montrant le nombre de Th1 circulants à W0 et W6 dans les deux cohortes (B). Les nombres de Th1 ont été calculés à partir du nombre total de cellules T CD4 + circulantes. C et D. La production d'IFN et de TNF par les cellules T a été évaluée après restimulation polyclonale ex-vivo de cellules T CD4 et CD8 purifiées à partir de PBMC à W0 et W6 par cytométrie en flux. Des images représentatives de cytométrie en flux (A) et des graphiques récapitulatifs (B) sont représentés. E et F. Taux de cytokines IFNγ (E) et TNF (F) évalués dans le plasma des patients à W0 et W6 par Mesoscale. En raison du faible nombre de patients, les analyses statistiques n'ont été effectuées que sur les données regroupées des deux cohortes. La réponse clinique mise en évidence a été évaluée à S12. Extrait de TICIMEL[215]

D'après les premières données de TICIMEL, les anti-TNFα ne semblent pas altérer la maturation et l'activation de la réponse immunitaire induite par la combinaison des anti-CTLA-4 et des anti-PD-1. Toutefois, ces analyses devront être complétées par des études de la réponse immunitaire au niveau de la tumeur pour évaluer l'impact pharmacodynamique des anti-TNFα sur les lymphocytes et autres composantes du microenvironnement tumoral.

CONCLUSION

Le mélanome métastatique est un cancer cutané ayant une incidence croissante à travers le monde depuis des décennies. Il est causé par une accumulation de mutations génétiques au niveau des mélanocytes (telles que la mutation oncogénique $BRAF^{V600E}$). Une des thérapies possibles pour la prise en charge de ce cancer est l'immunothérapie. Elle vise à réactiver les réponses du système immunitaire à l'encontre les cellules de mélanome.

Bien qu'immunogènes, les cellules de mélanome peuvent développer une résistance à l'action du système immunitaire par des mécanismes de résistance primaire ou adaptative. En ce qui concerne la résistance adaptative, l'expression de points de contrôle, comme CTLA-4 et PD-1, à la surface des lymphocytes T spécifiques des cellules de mélanome, constitue un véritable frein moléculaire. Celui-ci contribue à l'épuisement lymphocytaire et à l'échappement des cellules tumorales au système immunitaire. Les immunothérapies, fondées notamment sur l'administration d'anticorps monoclonaux anti-CTLA-4, comme l'ipilimumab, et anti-PD-1, comme le nivolumab neutralisent ces points de contrôle du système immunitaire. Elles sont administrées en monothérapie ou en association et améliorent la survie sans progression et la survie globale chez les patients atteints de mélanome localement avancé et/ou métastatique non résécable. C'est une thérapie ayant des réponses soutenues dans le temps mais allant de pair avec des effets indésirables (ou irAEs) importants comme la colite qui, lorsqu'elle est sévère, peut causer le décès du patient.

La colite liée à l'immunothérapie chez les patients atteints de mélanome avancé peut être prise en charge par un traitement symptomatique lorsque qu'elle est d'un faible grade ou par l'administration de glucocorticoïdes de manière échelonnée, associée, ou non, à l'arrêt de l'immunothérapie. Néanmoins, des effets indésirables sévères, comme la colite réfractaire à la corticothérapie ou des effets secondaires de la corticothérapie, imposent l'arrêt du traitement et l'introduction d'un anti-inflammatoire puissant, l'infliximab, un anticorps chimérique dirigé

contre le TNFα. Le TNFα est une cytokine pro-inflammatoire majeure impliquée dans les colites auto-immunes, mais jouant aussi un rôle dual dans la réponse immunitaire anti-tumorale et la progression tumorale[217]. Il est donc important de comprendre l'impact de l'utilisation des anti-TNFα dans le mélanome métastasique traité par immunothérapie anti-PD-1 et anti-CTLA-4.

Des études précliniques sur l'utilisation des anti-TNFα dans le mélanome expérimental révèlent que le blocage concomitant anti-TNFα et ICI présente un intérêt réel[188][142]. En effet, en plus de limiter les irAEs comme les colites, les anti-TNFα augmentent le rejet des tumeurs de mélanome. Ainsi, les anti-TNFα n'altèrent pas l'efficacité de l'immunothérapie ciblant PD-1 et CTLA-4, et semblent même la potentialiser. Cette potentialisation de l'efficacité thérapeutique des anti-PD-1 et des anti-CTLA-4 par les anti-TNFα peut s'expliquer par le fait que les ICI favorisent une production de TNFα dans le microenvironnement tumoral de l'hôte qui contribue (de manière TNF-R1-dépendante[188]) à l'évasion immunitaire du mélanome donc à la résistance acquise aux immunothérapies anti-mélanome. Le mécanisme principal qui a été décrit par deux laboratoires et dans trois modèles précliniques de cancer repose sur l'induction de l'AICD des TIL CD8+ par le TNFα. Tandis que chez la souris, l'AICD dépend de l'engagement du TNFR1[190][188], chez l'Homme il semble dépendre de la stimulation du TNFR2[218]. D'autres mécanismes dépendants du TNF pourraient être impliqués dans la résistance aux immunothérapies comme (i) la dédifférenciation des cellules mélanocytaires[189], (ii) l'expression des molécules comme PD-L1 et TIM-3[188], (iii) l'accumulation dans le microenvironnement tumoral de cellules immunosuppressives, comme les LT régulateurs et les MDSC[219].

Dans un modèle préclinique de mélanome[188], l'association de l'anti-TNFα et de l'anti-PD-1 s'est avérée plus efficace (moins de croissance tumorale et plus de survie) que le traitement anti-PD-1 seul (*figure 44).* Sans thérapie, les tumeurs mélaniques sont infiltrées par

des LT qui expriment PD-1 à leur surface et sécrètent du TNFα. Ces deux événements moléculaires limitent l'action anti-tumorale des LT. Les anti-PD-1 seuls peuvent réactiver les LT. Toutefois, cette réactivation est associée à une augmentation de la sécrétion de TNFα qui limite l'efficacité thérapeutique des anti-PD-1. La combinaison des anti-PD-1 et des anti-TNFα augmente l'infiltration des tumeurs par les LT CD8+ et leur activité, entrainant une meilleure efficacité thérapeutique.

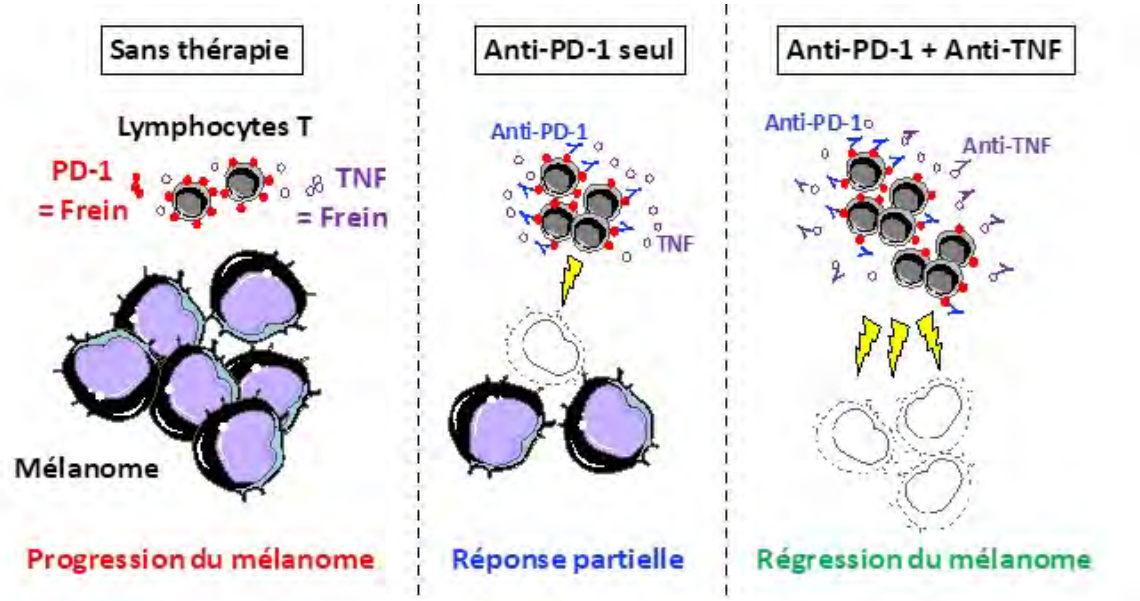


Figure 44. L'association de l'anti-TNFα et de l'anti-PD-1 est plus efficace que le traitement anti-PD-1 seul pour traiter les mélanomes.

Extrait de[220]

Il ressort d'une analyse *in silico* sur biopsie de mélanome humain que le TNFα fait partie d'un réseau de gènes permettant l'expression de protéines impliquées dans l'immunosuppression, confirmant les découvertes pré-cliniques [188].

Il est donc intéressant d'envisager chez l'Homme une association anti-TNFα et ICI dans le traitement du mélanome avancé. Des essais cliniques montrent que l'administration des anti-TNFα seuls sont sûrs et bien tolérés chez des patients atteints de cancer et n'induisent pas une augmentation de l'incidence des mélanomes[184183182181]. C'est dans ce contexte qu'a été initié

l'essai clinique TICIMEL à l'Oncopole, visant à évaluer la combinaison des anti-TNFα et des ICI chez des patients atteints de mélanome avancé. Malgré le faible nombre de patients inclus dans chaque cohorte, la première partie de cet essai indique qu'une combinaison des anti-TNFα (infliximab ou certolizumab) et ICI (ipilimumab et nivolumab) (i) est sûre (au moins aussi sûre que la thérapie associant nivolumab et ipilimumab), (ii) n'aurait pas d'effet négatif sur la réponse thérapeutique et (iii) est associée à une maturation des réponses immunitaires systémiques à médiation cellulaire[215].

Concernant la réponse immunitaire, cet essai clinique de phase I indique que l'association des ICI et des anti-TNFα favorise probablement les réponses immunitaires anti-tumorales par :

- Une diminution de la proportion de cellules immunosuppressives (telles que les MDSC)
- Une augmentation du pourcentage et du nombre de LT CD4+ et CD8+
- Une augmentation du pourcentage et du nombre de monocytes exprimant fortement les molécules CMH (associées positivement à la réponse à l'anti-PD-1)
- Une augmentation des taux plasmatiques d'IFNγ suggérant une réorientation de la réponse immunitaire systémique vers une réponse immunitaire à médiation cellulaire Th1.

Une observation intéressante de la première partie de cet essai est que la combinaison des ICI avec les anti-TNFα semble induire un impact pharmacodynamique et clinico-biologique supérieur dans la cohorte certolizumab que dans la cohorte infliximab. En effet, les patients de la cohorte certolizumab ont tous répondu, contrairement aux patients de la cohorte infliximab. En contrepartie, ils ont plus développé d'irAEs. Cela peut s'expliquer par le fait que (i) le certolizumab et l'infliximab se lient à des épitopes différents qui peuvent moduler de manière différentielle les voies de signalisation dépendante du TNF ; (ii) que le certolizumab est un Fab pégylé humanisé, l'infliximab est une IgG1 chimérique, dont le fragment Fc module

probablement les réponses immunitaires ; (iii) que l'infliximab est administré par voie IV et le certolizumab est injecté par voie SC, ce qui peut avoir un impact différent sur les réponses immunitaires. Ainsi, tandis que le certolizumab pourrait augmenter l'efficacité thérapeutique des ICI, l'infliximab serait plus à même d'augmenter la tolérance. Pour évaluer ces hypothèses, la deuxième partie de l'essai clinique TICIMEL prévoit le recrutement de 12 patients supplémentaires dans la cohorte certolizumab et de 6 autres patients dans la cohorte infliximab. Si les résultats cliniques encourageants se confirment dans la deuxième partie de TICIMEL, un essai clinique de phase 2 pourrait être envisagé chez des patients atteints de mélanome avancé avec un bras contrôle ipilimumab et nivolumab, sans anti-TNFα ; un bras ipilimumab, nivolumab et certolizumab ; un bras ipilimumab, nivolumab et infliximab. Enfin, les combinaisons ICI et anti-TNF pourraient être évaluées chez des patients atteints d'autres types de cancer, comme les cancers coliques et les cancers du poumon.

BIBLIOGRAPHIE

1. La peau humaine normale. 2013
2. Nestle FO, Meglio PD, Qin J-Z, Nickoloff BJ. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009
3. Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol Today*. 1993
4. Société Française de Dermatologie. Accessed March 1, 2020.
5. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*. 2007
6. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol EJD*. 2002
7. ALD n° 30 - Mélanome cutané. Haute Autorité de Santé. Accessed February 29, 2020.
8. Kaidbey KH, Agin PP, Sayre RM, Kligman AM. Photoprotection by melanin--a comparison of black and Caucasian skin. *J Am Acad Dermatol*. 1979
9. Melanoma. The Skin Cancer Foundation. Accessed February 29, 2020.
10. INCA - Les cancers en France. Accessed March 1, 2020.
11. Ali Z, Yousaf N, Larkin J. Melanoma epidemiology, biology and prognosis. *EJC Suppl*. 2013
12. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015
13. Masson E. Éléments d'interprétation des estimations régionales de l'incidence du cancer en France sur la période 1980–2005. EM-Consulte. Accessed March 1, 2020.
14. MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AMM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol*. 2009
15. Global Cancer Observatory. Accessed April 19, 2021.
16. Gautier et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Volume 1 : Tumeurs solides : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Published online 2019.
17. Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, et al. Malignant Melanoma in the 21st Century, Part 1: Epidemiology, Risk Factors, Screening, Prevention, and Diagnosis. *Mayo Clin Proc*. 2007
18. Rigel DS. Epidemiology of Melanoma 2010
19. Cutaneous malignant melanoma in Europe. *Eur J Cancer*. 2004

20. Forsea A m., del Marmol V, de Vries E, Bailey E e., Geller A c. Melanoma incidence and mortality in Europe: new estimates, persistent disparities. *Br J Dermatol*. 2012

21. Smolle J, Kaddu S, Kerl H. Non-random spatial association of melanoma and naevi--a morphometric analysis. *Melanoma Res*. 1999

22. Marks R, Dorevitch AP, Mason G. Do all melanomas come from "moles"? A study of the histological association between melanocytic naevi and melanoma. *Australas J Dermatol*. 1990

23. AFIP Atlas of Tumor Pathology: Melanocytic Tumors of the Skin. www.arppress.org. Accessed March 21, 2020

24. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med*. 2005

25. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature*. 2013

26. Lloyd RE, Larson RA, Adair TL, Tuveson RW. CU(II) SENSITIZES pBR322 PLASMID DNA TO INACTIVATION BY UV-B(280–315 nm). *Photochem Photobiol*. 1993

27. Gilchrest BA, Eller MS, Geller AC, Yaar M. The Pathogenesis of Melanoma Induced by Ultraviolet Radiation.

28. Hodis E, Watson IR, Kryukov GV, et al. A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell*. 2012

29. Cancer Genome Atlas Network. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*. 2015

30. Candido S, Rapisarda V, Marconi A, et al. Analysis of the B-RafV600E mutation in cutaneous melanoma patients with occupational sun exposure. *Oncol Rep*. 2014

31. Bastian BC. The molecular pathology of melanoma: an integrated taxonomy of melanocytic neoplasia. *Annu Rev Pathol*. 2014

32. Raman M, Chen W, Cobb MH. Differential regulation and properties of MAPKs. *Oncogene*. 2007

33. Carlino MS, Long GV, Kefford RF, Rizos H. Targeting oncogenic BRAF and aberrant MAPK activation in the treatment of cutaneous melanoma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015

34. Yuan T, Cantley L. PI3K pathway alterations in cancer: variations on a theme. *Oncogene*. 2008

35. Davies MA. The role of the PI3K-AKT pathway in melanoma. *Cancer J Sudbury Mass*. 2012

36. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002

37. KIT Gene Mutations and Copy Number in Melanoma Subtypes | Clinical Cancer Research. Accessed March 20, 2020.

38. Elucidating Distinct Roles for NF1 in Melanomagenesis | Cancer Discovery. Accessed March 20, 2020

39. Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N Engl J Med*. 2012

40. Viros A, Sanchez-Laorden B, Pedersen M, et al. Ultraviolet radiation accelerates BRAF-driven melanomagenesis by targeting TP53. *Nature*. 2014

41. Lowe SW, Cepero E, Evan G. Intrinsic tumour suppression. *Nature*. 2004

42. Bunz F, Hwang PM, Torrance C, et al. Disruption of p53 in human cancer cells alters the responses to therapeutic agents. *J Clin Invest*. 1999

43. Sparrow LE, Soong R, Dawkins H, Iacopetta B, Heenan PJ. p53 gene mutation and expression in naevi and melanomas. *Melanoma Res*. 1995

44. Lübbe J, Reichel M, Burg G, Kleihues P. Absence of p53 Gene Mutations in Cutaneous Melanoma. *J Invest Dermatol*. 1994

45. Gembarska A, Luciani F, Fedele C, et al. MDM4 is a key therapeutic target in cutaneous melanoma. *Nat Med*. 2012

46. Goldstein AM, Tucker MA. Genetic Epidemiology of Cutaneous Melanoma: A Global Perspective. *Arch Dermatol*. 2001

47. Barnhill RL, Roush GC, Titus-Ernstoff L, Ernstoff MS, Duray PH, Kirkwood JM. Comparison of Nonfamilial and Familial Melanoma. *Dermatology*. 1992

48. Kopf AW, Hellman LJ, Rogers GS, et al. Familial Malignant Melanoma. *JAMA*. 1986

49. Soura E, Eliades PJ, Shannon K, Stratigos AJ, Tsao H. Hereditary melanoma: Update on syndromes and management: Emerging melanoma cancer complexes and genetic counseling. *J Am Acad Dermatol*. 2016

50. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. 2005

51. Tsao H, Niendorf K. Genetic testing in hereditary melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2004

52. Gruis NA, van der Velden PA, Sandkuijl LA, et al. Homozygotes for CDKN2 (p16) germline mutation in Dutch familial melanoma kindreds. *Nat Genet*. 1995

53. CEDEF 1 2. Item 149 – Tumeurs cutanées épithéliales et mélaniques : nævus 2012. A

54. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988

55. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: III. Family history, actinic damage and phenotypic factors. *Eur J Cancer*. 2005

56. Holly EA, Kelly JW, Shpall SN, Chiu S-H. Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 1987

57. Halpern AC, Guerry D, Elder DE, et al. Dysplastic Nevi as Risk Markers of Sporadic (Nonfamilial) Melanoma: A Case-Control Study. *Arch Dermatol*. 1991

58. Greene MH. High Risk of Malignant Melanoma in Melanoma-Prone Families with Dysplastic Nevi. *Ann Intern Med*. 1985

59. Watt AJ, Kotsis SV, Chung KC. Risk of Melanoma Arising in Large Congenital Melanocytic Nevi: A Systematic Review. *Plast Reconstr Surg*. 2004

60. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer*. 2005

61. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer*. 2005

62. Bataille V, Bishop JA, Sasieni P, et al. Risk of cutaneous melanoma in relation to the numbers, types and sites of naevi: a case-control study. *Br J Cancer*. 1996

63. CEDEF 1 2. Item 149 – Tumeurs cutanées épithéliales et mélaniques : mélanomes. 2020.

64. Guerry D, Synnestvedt M, Elder DE, Schultz D. Lessons from Tumor Progression: The Invasive Radial Growth Phase of Melanoma Is Common, Incapable of Metastasis, and Indolent. *J Invest Dermatol*. 1993

65. VIDAL - Mélanome cutané - Prise en charge. Accessed March 13, 2020.

66. Ross M, Gershenwald J. Evidence-Based Treatment of Early-Stage Melanoma. *J Surg Oncol*. 2011

67. Guillot B, Dalac S, Denis MG, et al. French updated recommendations in Stage I to III melanoma treatment and management. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017

68. Morton DL, Thompson JF, Cochran AJ, et al. Final Trial Report of Sentinel-Node Biopsy versus Nodal Observation in Melanoma.

69. Leiter U, Stadler R, Mauch C, et al. Complete lymph node dissection versus no dissection in patients with sentinel lymph node biopsy positive melanoma (DeCOG-SLT): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016

70. Eggermont AMM, Kirkwood JM. Re-evaluating the role of dacarbazine in metastatic melanoma: what have we learned in 30 years? *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*.

71. Lee SM, Betticher DC, Thatcher N. Melanoma: chemotherapy. *Br Med Bull*. 1995

72. Trinh VA. Current management of metastatic melanoma. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 2008

73. Plummer R, Lorigan P, Brown E, et al. Phase I–II study of plitidepsin and dacarbazine as first-line therapy for advanced melanoma. *Br J Cancer*. 2013

74. Bedikian AY, Millward M, Pehamberger H, et al. Bcl-2 Antisense (oblimersen sodium) Plus Dacarbazine in Patients With Advanced Melanoma: The Oblimersen Melanoma Study Group. *J Clin Oncol*. 2006

75. Middleton MR, Grob JJ, Aaronson N, et al. Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2000

76. Korn EL, Liu P-Y, Lee SJ, et al. Meta-analysis of phase II cooperative group trials in metastatic stage IV melanoma to determine progression-free and overall survival benchmarks for future phase II trials. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2008

77. Zelboraf_PM_F Accessed April 28, 2020.

78. Hauschild A, Grob J-J, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2012

79. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med*. 2011

80. Resistance to BRAF inhibition in melanomas. - PubMed - NCBI. Accessed April 28, 2020.

81. Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al. Improved Survival with MEK Inhibition in BRAF-Mutated Melanoma. *N Engl J Med*. 2012;

82. Flaherty KT, Infante JR, Daud A, et al. Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. *N Engl J Med*. 2012

83. Updated overall survival (OS) for BRF113220, a phase 1-2 study of dabrafenib (D) alone versus combined dabrafenib and trametinib (D+T) in pts with BRAF V600 mutation-positive (+) metastatic melanoma (MM). | Journal of Clinical Oncology. Accessed April 28, 2020

84. Patients atteints de mélanome de stade III inopérable ou de stade IV - Synthèse - Ref : RECOMELASYNTH17. Accessed April 28, 2020

85. Dossett LA, Kudchadkar RR, Zager JS. BRAF and MEK inhibition in melanoma. *Expert Opin Drug Saf*. 2015

86. Richman J, Martin-Liberal J, Diem S, Larkin J. BRAF and MEK inhibition for the treatment of advanced BRAF mutant melanoma. *Expert Opin Pharmacother*. 2015

87. Atefi M, von Euw E, Attar N, et al. Reversing melanoma cross-resistance to BRAF and MEK inhibitors by co-targeting the AKT/mTOR pathway. *PloS One*. 2011

88. Ascierto P, Vecchio M, Robert C, et al. Overall survival (OS) and safety results from a phase 3 trial of ipilimumab (IPI) at 3 mg/kg vs 10 mg/kg in patients with metastatic melanoma (MEL). *Jpn Soc Med Oncol*. 2016

89. Weber JS, Kähler KC, Hauschild A. Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012

90. Beatty GL, Gladney WL. Immune Escape Mechanisms as a Guide for Cancer Immunotherapy. *Clin Cancer Res*. 2015

91. Tian T, Olson S, Whitacre JM, Harding A. The origins of cancer robustness and evolvability. *Integr Biol*. 2011

92. Speiser DE, Romero P. Molecularly defined vaccines for cancer immunotherapy, and protective T cell immunity. *Semin Immunol*. 2010

93. Disis ML. Immune regulation of cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010

94. Catros-Quemener V, Bouet F, Genetet N. Immunité anti-tumorale et thérapies cellulaires du cancer. *médecine/sciences*. 2003

95. Chen DS, Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity*. 2013

96. Leung HT, Bradshaw J, Cleaveland JS, Linsley PS. Cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4, a high-avidity receptor for CD80 and CD86, contains an intracellular localization motif in its cytoplasmic tail. *J Biol Chem*. 1995

97. Valk E, Leung R, Kang H, Kaneko K, Rudd CE, Schneider H. T Cell Receptor-Interacting Molecule Acts as a Chaperone to Modulate Surface Expression of the CTLA-4 Coreceptor. *Immunity*. 2006

98. Jiang Y, Li Y, Zhu B. T-cell exhaustion in the tumor microenvironment. *Cell Death Dis*. 2015

99. Pisconti S, Scarpati GDV, Facchini G, et al. The evolving landscape of immunotherapy against cancer.2012

100. Rudd CE, Taylor A, Schneider H. CD28 and CTLA-4 coreceptor expression and signal transduction. *Immunol Rev*. 2009

101. La biologie des cibles PD-1 et CTLA-4 et la question des biomarqueurs | médecine/sciences. Accessed April 25, 2021.

102. VIDAL - Ipilimumab. Accessed May 5, 2020.

103. Wolchok JD, Neyns B, Linette G, et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncol*. 2010

104. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010

105. Hui E, Cheung J, Zhu J, et al. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition. *Science*. 2017

106. Release the B7.1! Anti-PD-L1 breaks PD-L1's grip. ACIR (en-US). Accessed April 25, 2021.

107. Chemnitz J, Nichols K, June C, Riley J. SHP-1 and SHP-2 Associate with Immunoreceptor Tyrosine-Based Switch Motif of Programmed Death 1 upon Primary Human T Cell Stimulation, but Only Receptor Ligation Prevents T Cell Activation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2004

108. Ahn E, Araki K, Hashimoto M, et al. Role of PD-1 during effector CD8 T cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018

109. VIDAL - Nivolumab. Accessed May 13, 2020.

110. VIDAL - Pembrolizumab. Accessed May 13, 2020. h

111. Robert C, Long GV, Brady B, et al. Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation. *N Engl J Med*. 2015

112. Arulananda S, Blackley E, Cebon J. Review of immunotherapy in melanoma. *Cancer Forum*. 2018

113. Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2013

114. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med*. 2015

115. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Five-Year Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2019

116. Phase III CheckMate -067 Trial Demonstrates Superior Progression-Free Survival of Opdivo+Yervoy Regimen or Opdivo Monotherapy vs. Yervoy Monotherapy in Previously Untreated Patients with Advanced Melanoma | BMS Newsroom. Published May 13, 2020. Accessed May 13, 2020

117. Haanen JB a. G, Carbonnel F, Robert C, et al. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017

118. KEYNOTE-029: Efficacy and safety of pembrolizumab (pembro) plus ipilimumab (ipi) for advanced melanoma. | Journal of Clinical Oncology. Accessed May 14, 2020.

119. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2017

120. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). :196.

121. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Checkpoint Inhibitors (22.02.2019). Deutsches Ärzteblatt. Accessed October 8, 2020.

122. McDermott D, Haanen J, Chen T-T, Lorigan P, O'Day S, MDX010-20 Investigators. 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*. 2013

123. Horvat TZ, Adel NG, Dang T-O, 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*. 2015

124. Immunotherapy-Induced Colitis: An Emerging Problem for the Hospitalist.

125. Beck KE, Blansfield JA, Tran KQ, 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*. 2006

126. O'Day SJ, Maio M, Chiarion-Sileni V, et al. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2010

127. Agarwal K, Yousaf N, Morganstein D. Glucocorticoid use and complications following immune checkpoint inhibitor use in melanoma. *Clin Med*. 2020

128. Netgen. Nouvelles immunothérapies du mélanome : mécanismes d'action, efficacité et prise en charge des toxicités. Revue Médicale Suisse. Accessed September 15, 2020.

129. Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD, et al. Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017

130. Menzies AM, Johnson DB, Ramanujam S, et al. Anti-PD-1 therapy in patients with advanced melanoma and preexisting autoimmune disorders or major toxicity with ipilimumab. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017

131. Carli L, Tani C, Querci F, et al. Analysis of the prevalence of cataracts and glaucoma in systemic lupus erythematosus and evaluation of the rheumatologists' practice for the monitoring of glucocorticoid eye toxicity. *Clin Rheumatol*. 2013

132. Huscher D, Thiele K, Gromnica-Ihle E, et al. Dose-related patterns of glucocorticoid-induced side effects. *Ann Rheum Dis*. 2009

133. Marthey L, Mateus C, Mussini C, et al. Cancer Immunotherapy with Anti-CTLA-4 Monoclonal Antibodies Induces an Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis*. 2016

134. Abu-Sbeih H, Ali FS, Wang X, et al. Early introduction of selective immunosuppressive therapy associated with favorable clinical outcomes in patients with immune checkpoint inhibitor-induced colitis. *J Immunother Cancer*. 2019

135. Weber J, Thompson JA, Hamid O, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2009

136. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: Biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology*. 2000

137. Black RA, Rauch CT, Kozlosky CJ, et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*. 1997

138. Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell*. 2003

139. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: Integrating mammalian biology. *Cell*. 2001

140. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*. 2008

141. Brynskov J, Foegh P, Pedersen G, et al. Tumour necrosis factor converting enzyme (TACE) activity in the colonic mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2002

142. Perez-Ruiz E, Minute L, Otano I, et al. Prophylactic TNF blockade uncouples efficacy and toxicity in dual CTLA-4 and PD-1 immunotherapy. *Nature*. 2019

143. VIDAL - Infliximab. Accessed September 15, 2020.

144. Infliximab in the treatment of anti-CTLA4 antibody (ipilimumab) induced immune-related colitis. Accessed September 15, 2020.

145. Gupta A, De Felice KM, Loftus EV, Khanna S. Systematic review: colitis associated with anti-CTLA-4 therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015

146. Checkpoint inhibitors and gastrointestinal immune-related adverse events. Accessed September 15, 2020

147. Vilcek J. First demonstration of the role of TNF in the pathogenesis of disease. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2008

148. REMICADE. Haute Autorité de Santé. Accessed October 6, 2020.

149. REMICADE - EurekaSanté par VIDAL. EurekaSanté. Accessed October 6, 2020.

150. Anti-TNF alpha. Published October 5, 2020. Accessed October 5, 2020.

151. HUMIRA (adalimumab), inhibiteur du TNFα. Haute Autorité de Santé. Accessed October 6, 2020.

152. SIMPONI (golimumab), anti-TNF. Haute Autorité de Santé. Accessed October 6, 2020.

153. VIDAL - étanercept. Accessed October 6, 2020.

154. Alldred A. Etanercept in rheumatoid arthritis. *Expert Opin Pharmacother*. 2001

155. ENBREL (étanercept), anti-TNF α. Haute Autorité de Santé. Accessed October 6, 2020.

156. Lim H, Lee SH, Lee HT, et al. Structural Biology of the TNFα Antagonists Used in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Int J Mol Sci*. 2018

157. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. *Pharmacol Ther*. 2008

158. CIMZIA. Haute Autorité de Santé. Accessed October 6, 2020.

159. VIDAL - Certolizumab pégol. Accessed October 6, 2020.

160. Coussens L, Werb Z. Inflammation and Cancer. *Nature*. 2002

161. Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci*. 1975

162. Lejeune FJ, Rüegg C, Liénard D. Clinical applications of TNF-alpha in cancer. *Curr Opin Immunol*. 1998

163. Lienard D, Ewalenko P, Delmotte JJ, Renard N, Lejeune FJ. High-dose recombinant tumor necrosis factor alpha in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1992

164. Balkwill F. Tumor necrosis factor or tumor promoting factor? *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002

165. Ryuto M, Ono M, Izumi H, et al. Induction of vascular endothelial growth factor by tumor necrosis factor alpha in human glioma cells. Possible roles of SP-1. *J Biol Chem*. 1996

166. Samaniego F, Markham PD, Gendelman R, Gallo RC, Ensoli B. Inflammatory cytokines induce endothelial cells to produce and release basic fibroblast growth factor and to promote Kaposi's sarcoma-like lesions in nude mice. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1997

167. Montfort A, Colacios C, Levade T, Andrieu-Abadie N, Meyer N, Ségui B. The TNF Paradox in Cancer Progression and Immunotherapy. *Front Immunol*. 2019

168. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2009

169. Chen X, Bäumel M, Männel DN, Howard OMZ, Oppenheim JJ. Interaction of TNF with TNF Receptor Type 2 Promotes Expansion and Function of Mouse CD4+CD25+ T Regulatory Cells. *J Immunol*. 2007

170. Schioppa T, Moore R, Thompson RG, et al. B regulatory cells and the tumor-promoting actions of TNF-α during squamous carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci*. 2011

171. Zhao X, Rong L, Zhao X, et al. TNF signaling drives myeloid-derived suppressor cell accumulation. *J Clin Invest*. 2012

172. Hong D, Vence L, Falchook G, et al. BRAF(V600) inhibitor GSK2118436 targeted inhibition of mutant BRAF in cancer patients does not impair overall immune competency. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2012

173. Wilmott JS, Haydu LE, Menzies AM, et al. Dynamics of chemokine, cytokine, and growth factor serum levels in BRAF-mutant melanoma patients during BRAF inhibitor treatment. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2014

174. Menon DR, Wels C, Bonyadi Rad E, et al. TGF-β1 and TNF-α differentially regulate Twist1 mediated resistance towards BRAF/MEK inhibition in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2013

175. Leek RD, Landers R, Fox SB, Ng F, Harris AL, Lewis CE. Association of tumour necrosis factor alpha and its receptors with thymidine phosphorylase expression in invasive breast carcinoma. *Br J Cancer*. 1998

176. Mantovani A, Bussolino F, Dejana E. Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J*. 1992

177. Mantovani A, Bottazzi B, Colotta F, Sozzani S, Ruco L. The origin and function of tu - Recherche Google. Accessed January 14, 2021.

178. Miles DW, Happerfield LC, Naylor MS, Bobrow LG, Rubens RD, Balkwill FR. Expression of tumour necrosis factor (TNF alpha) and its receptors in benign and malignant breast tissue. *Int J Cancer*. 1994

179. Dougan M, Dranoff G, Dougan SK. Cancer Immunotherapy: Beyond Checkpoint Blockade. *Annu Rev Cancer Biol*. 2019

180. Dougan M, Li D, Neuberg D, et al. A dual role for the immune response in a mouse model of inflammation-associated lung cancer. *J Clin Invest*. 2011

181. Verheijden RJ, May AM, Blank CU, et al. Association of Anti-TNF with Decreased Survival in Steroid Refractory Ipilimumab and Anti-PD1-Treated Patients in the Dutch Melanoma Treatment Registry. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2020

182. Johnson DH, Zobniw CM, Trinh VA, et al. Infliximab associated with faster symptom resolution compared with corticosteroids alone for the management of immune-related enterocolitis. *J Immunother Cancer*. 2018

183. Lesage C, Longvert C, Prey S, et al. Incidence and Clinical Impact of Anti-TNFα Treatment of Severe Immune Checkpoint Inhibitor-induced Colitis in Advanced Melanoma: The Mecolit Survey. *J Immunother Hagerstown Md 1997*. 2019

184. Badran YR, Cohen JV, Brastianos PK, Parikh AR, Hong TS, Dougan M. Concurrent therapy with immune checkpoint inhibitors and TNFα blockade in patients with gastrointestinal immune-related adverse events. *J Immunother Cancer*. 2019

185. Favara DM, Spain L, Au L, et al. Five-year review of corticosteroid duration and complications in the management of immune checkpoint inhibitor-related diarrhoea and colitis in advanced melanoma. *ESMO Open*. 2020

186. Balkwill F. TNF-alpha in promotion and progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2006

187. Montfort A, Dufau C, Colacios C, et al. Anti-TNF, a magic bullet in cancer immunotherapy? *J Immunother Cancer*. 2019

188. Bertrand F, Montfort A, Marcheteau E, et al. TNFα blockade overcomes resistance to anti-PD-1 in experimental melanoma. *Nat Commun*. 2017;

189. Landsberg J, Kohlmeyer J, Renn M, et al. Melanomas resist T-cell therapy through inflammation-induced reversible dedifferentiation. *Nature*. 2012

190. Bertrand F, Rochotte J, Colacios C, et al. Blocking Tumor Necrosis Factor α Enhances CD8 T-cell-Dependent Immunity in Experimental Melanoma. *Cancer Res*. 2015

191. Schrama D, Voigt H, Eggert AO, et al. Immunological tumor destruction in a murine melanoma model by targeted LTalpha independent of secondary lymphoid tissue. *Cancer Immunol Immunother CII*. 2008

192. Cipponi A, Mercier M, Seremet T, et al. Neogenesis of lymphoid structures and antibody responses occur in human melanoma metastases. *Cancer Res*. 2012

193. Avram G, Sánchez-Sendra B, Martín JM, Terrádez L, Ramos D, Monteagudo C. The density and type of MECA-79-positive high endothelial venules correlate with lymphocytic infiltration and tumour regression in primary cutaneous melanoma. *Histopathology*. 2013

194. Martinet L, Le Guellec S, Filleron T, et al. High endothelial venules (HEVs) in human melanoma lesions: Major gateways for tumor-infiltrating lymphocytes. *Oncoimmunology*. 2012

195. Girard JP, Springer TA. High endothelial venules (HEVs): specialized endothelium for lymphocyte migration. *Immunol Today*. 1995

196. Montfort A, Colacios C, Levade T, Andrieu-Abadie N, Meyer N, Ségui B. Les anticorps anti-TNFα dans l'immunothérapie du mélanome. *médecine/sciences*. 2018

197. Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor - PubMed. Accessed January 26, 2021

198. Koyama S, Akbay EA, Li YY, et al. Adaptive resistance to therapeutic PD-1 blockade is associated with upregulation of alternative immune checkpoints. *Nat Commun*. 2016

199. Sabatos CA, Chakravarti S, Cha E, et al. Interaction of Tim-3 and Tim-3 ligand regulates T helper type 1 responses and induction of peripheral tolerance. *Nat Immunol*. 2003

200. Fourcade J, Sun Z, Benallaoua M, et al. Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8+ T cell dysfunction in melanoma patients. *J Exp Med*. 2010

201. Lim S-O, Li C-W, Xia W, et al. Deubiquitination and Stabilization of PD-L1 by CSN5. *Cancer Cell*. 2016

202. Donia M, Andersen R, Kjeldsen JW, et al. Aberrant Expression of MHC Class II in Melanoma Attracts Inflammatory Tumor-Specific CD4+ T- Cells, Which Dampen CD8+ T-cell Antitumor Reactivity. *Cancer Res*. 2015

203. Hettich M, Braun F, Bartholomä MD, Schirmbeck R, Niedermann G. High-Resolution PET Imaging with Therapeutic Antibody-based PD-1/PD-L1 Checkpoint Tracers. *Theranostics*. 2016

204. Siddiqui I, Schaeuble K, Chennupati V, et al. Intratumoral Tcf1+PD-1+CD8+ T Cells with Stem-like Properties Promote Tumor Control in Response to Vaccination and Checkpoint Blockade Immunotherapy. *Immunity*. 2019

205. Kurtulus S, Madi A, Escobar G, et al. Checkpoint Blockade Immunotherapy Induces Dynamic Changes in PD-1-CD8+ Tumor-Infiltrating T Cells. *Immunity*. 2019

206. Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, Blazar BR, Kuchroo VK, Anderson AC. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. *J Exp Med*. 2010

207. Ngiow SF, von Scheidt B, Akiba H, Yagita H, Teng MWL, Smyth MJ. Anti-TIM3 antibody promotes T cell IFN-γ-mediated antitumor immunity and suppresses established tumors. *Cancer Res*. 2011

208. Cancer Genome Atlas Network. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell*. 2015

209. Chen P-L, Roh W, Reuben A, et al. Analysis of Immune Signatures in Longitudinal Tumor Samples Yields Insight into Biomarkers of Response and Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade. *Cancer Discov*. 2016

210. Leombruno JP, Einarson TR, Keystone EC. The safety of anti-tumour necrosis factor treatments in rheumatoid arthritis: meta and exposure-adjusted pooled analyses of serious adverse events. *Ann Rheum Dis*. 2009

211. Askling J, Fahrbach K, Nordstrom B, Ross S, Schmid CH, Symmons D. Cancer risk with tumor necrosis factor alpha (TNF) inhibitors: meta-analysis of randomized controlled trials of adalimumab, etanercept, and infliximab using patient level data. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2011

212. Mercer LK, Lunt M, Low ALS, et al. Risk of solid cancer in patients exposed to anti-tumour necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2015

213. Moulis G, Sommet A, Béné J, et al. Cancer risk of anti-TNF-α at recommended doses in adult rheumatoid arthritis: a meta-analysis with intention to treat and per protocol analyses. *PloS One*. 2012

214. A clinical study assessing the tolerability and biological effects of infliximab, a TNF-α inhibitor, in patients with advanced cancer. *Ann Oncol*. 2008

215. Montfort A, Filleron T, Virazels M, et al. Combining Nivolumab and Ipilimumab with Infliximab or Certolizumab in Patients with Advanced Melanoma: First Results of a Phase Ib Clinical Trial. *Clin Cancer Res*. 2021

216. Trost LC, Lemasters JJ. A cytotoxicity assay for tumor necrosis factor employing a multiwell fluorescence scanner. *Anal Biochem*. 1994

217. Montfort A, Dufau C, Colacios C, et al. Anti-TNF, a magic bullet in cancer immunotherapy? *J Immunother Cancer*. 2019

218. Otano I, Alvarez M, Minute L, et al. Human CD8 T cells are susceptible to TNF-mediated activation-induced cell death. *Theranostics*. 2020

219. Montfort A, Colacios C, Levade T, Andrieu-Abadie N, Meyer N, Ségui B. The TNF Paradox in Cancer Progression and Immunotherapy. *Front Immunol*. 2019

TITRE EN FRANCAIS
Prise en charge des colites auto-immunes et impact des anti-TNF dans l'immunothérapie du mélanome avancé

RESUME EN FRANCAIS
Le mélanome est le cancer de la peau causant le plus de décès au monde. Il est induit par une interaction entre des facteurs environnementaux (tels que les UV) et individuels (mutation, phototype, etc). L'une des thérapies majeures de ce cancer est l'immunothérapie. L'immunothérapie par inhibiteur de checkpoint anti-CTLA-4 ou anti-PD-1 a pour but de réactiver la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T à l'encontre des cellules de mélanome. Cette thérapie a révolutionné la prise en charge du mélanome mais en contrepartie, elle impose aux patients des effets indésirables d'origine immunologique graves comme la colite. En fonction des grades, cette colite peut être traitée par un traitement symptomatique ou par corticothérapie. Dans le cas où les colites sont réfractaires à la corticothérapie, un traitement anti-TNFa est proposé en seconde intention. Le TNF est une cytokine pro-inflammatoire majeure, impliquée dans la colite. Mais le TNF joue aussi un rôle dual en cancérologie, agissant comme facteur nécrosant les tumeurs ou impliquée dans les mécanismes d'immunosuppression. Les conséquences du traitement des colites auto-immunes par anti-TNFa dans le contexte du mélanome avancé sont controversées. J'ai donc réalisé une étude bibliographique au sujet de l'intérêt potentiel de l'utilisation des anti-TNF dans le cadre d'une immunothérapie basée sur la combinaison des anti-CTLA-4 et des anti-PD-1 dans le mélanome de stade avancé. Il ressort des essais pré-cliniques chez la souris et de l'essai clinique TICIMEL (NCT03293784) que l'association entre ces immunothérapies est sure et pourrait augmenter l'efficacité du traitement anti-tumoral.

TITRE EN ANGLAIS
Management of autoimmune colitis and the impact of anti-TNF in advanced melanoma immunotherapy

RESUME EN ANGLAIS
Melanoma is the most fatal skin cancer in the world. It's due to an interaction between environmental (such as UV) and individual (mutation, phototype, etc.) factors. One of the major therapies for this cancer is immunotherapy. The purpose of anti-CTLA-4 or anti-PD-1 checkpoint inhibitor immunotherapy is to reactivate the T cell-mediated immune response against melanoma cells. On one hand, this therapy has revolutionized the management of melanoma, but on the other hand, it imposes serious adverse effects of immunological origin on patients, such as colitis. Depending on the grade, this colitis can be treated with symptomatic treatment or corticosteroid therapy. If the colitis is refractory to corticosteroid therapy, anti-TNF treatment is offered as a second-line treatment. TNF is a major pro-inflammatory cytokine involved in colitis. But TNF also plays a dual role in oncology, acting as a tumor necrosis factor or involved in the mechanisms of immunosuppression. The consequences of treating autoimmune colitis with anti-TNFα in the context of advanced melanoma are controversial. I therefore performed a literature review on the potential interest of the use of anti-TNF in the context of an immunotherapy based on the combination of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 in advanced melanoma. It emerges from preclinical studies in mice and TICIMEL clinical trial (NCT03293784) that the association between those immunotherapies is safe and may increase the effectiveness of the anti-tumor treatment.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Pharmacie

MOTS CLES : Mélanome, immunothérapie, CTLA4, PDL1, colite auto-immune, corticothérapie, TNF, anti-TNF

DIRECTEUR DE THESE : Ségui Bruno

UNIVERSITE TOULOUSE III - Paul SABATIER
Faculté des sciences Pharmaceutiques 35, chemin des maraîchers
31062 Toulouse cedex 9