

8^e ÉDITION

JOURNÉES DU GFCO 2022

Biomarqueurs et analyses moléculaires en oncologie

Avec la participation
scientifique du



Marqueurs moléculaires de l'immunothérapie et TMB

Hélène Blons, Paris

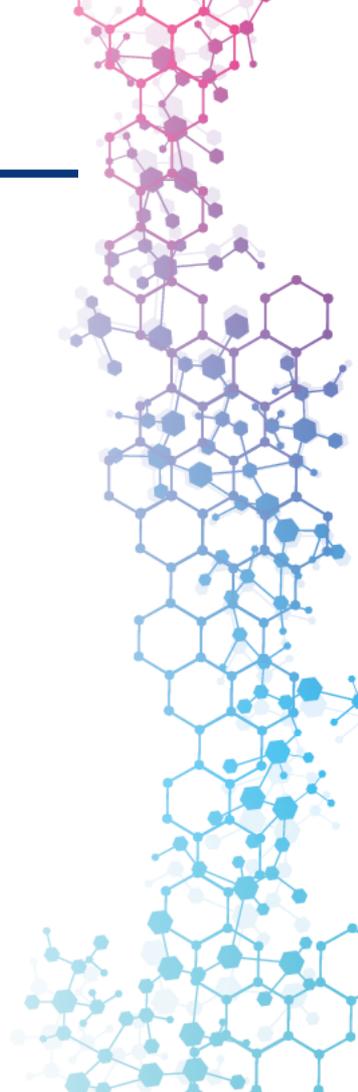
Modérateur : Jonathan Lopez, Lyon



LIENS D'INTÉRÊT

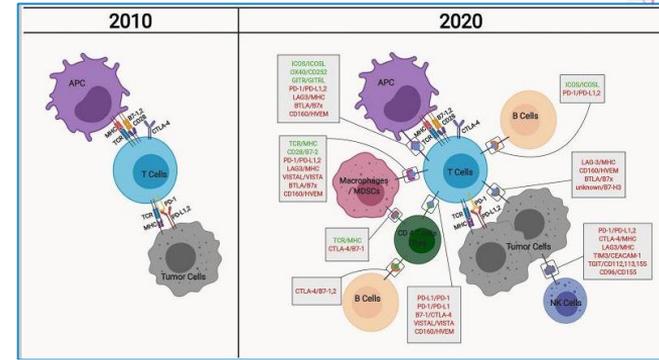
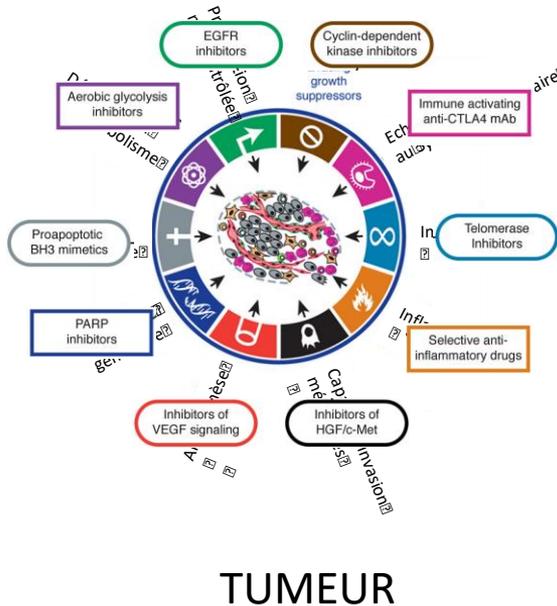
Pr H BLONS

- *AstraZeneca : board, collaboration scientifique, honoraires réunion scientifique*
- *BMS : honoraires réunion scientifique*
- *Lilly : board*
- *Janssen : honoraires réunion scientifique*
- *Amgen : honoraires réunion scientifique*
- *MSD : honoraires réunion scientifique*



Hallmarks of Cancer

d'après Douglas Hanahan and Robert A. Weinberg Cell 2011



Contexte différent d'une situation d'addiction oncogénique

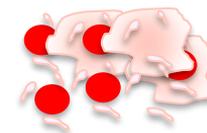
Question Biologique

- Valider des biomarqueurs de réponse aux ICIs

Marqueurs
Cellulaires ?

Marqueurs
Moléculaire ?

PDL1



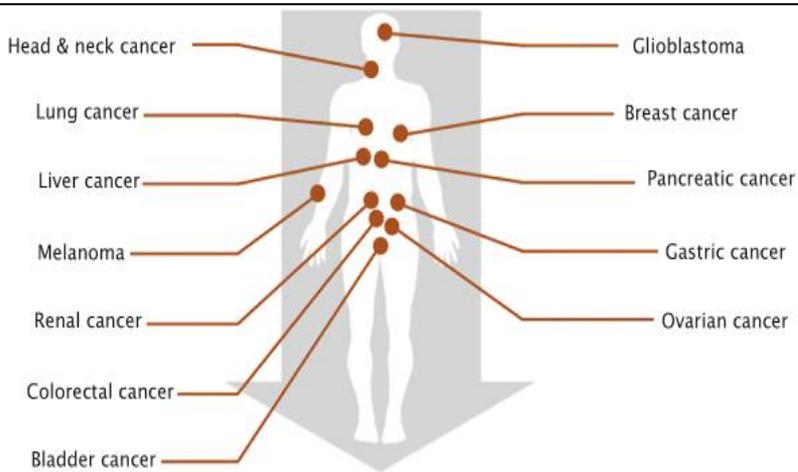
Objectifs médicaux

- Restreindre l'utilisation des ICIs aux répondeurs
- Limiter les TOXICITES

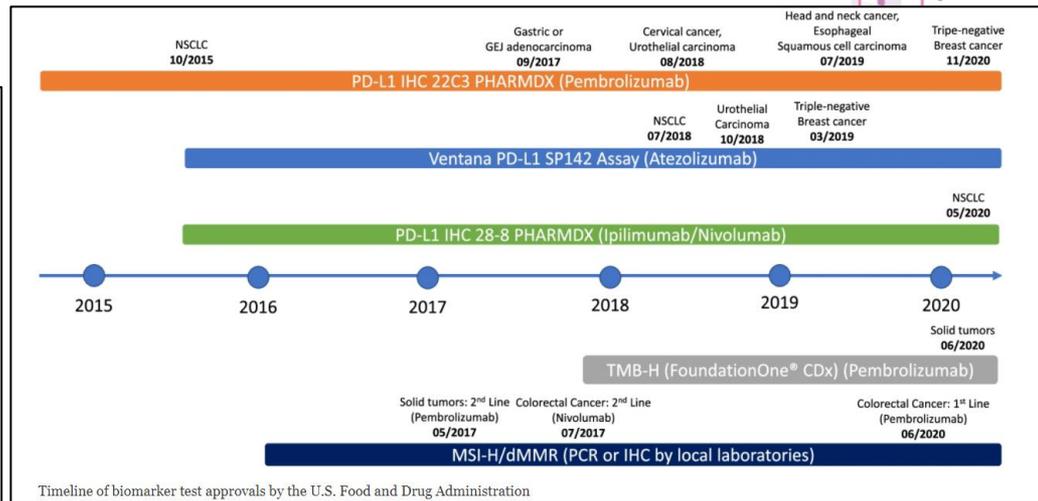
Réponse / Bénéfice des ICIs

- Globalement non / peu guidée par un biomarqueur

- Une prescription large



- Neoadjuvant
- Adjuvant
- Métastatique



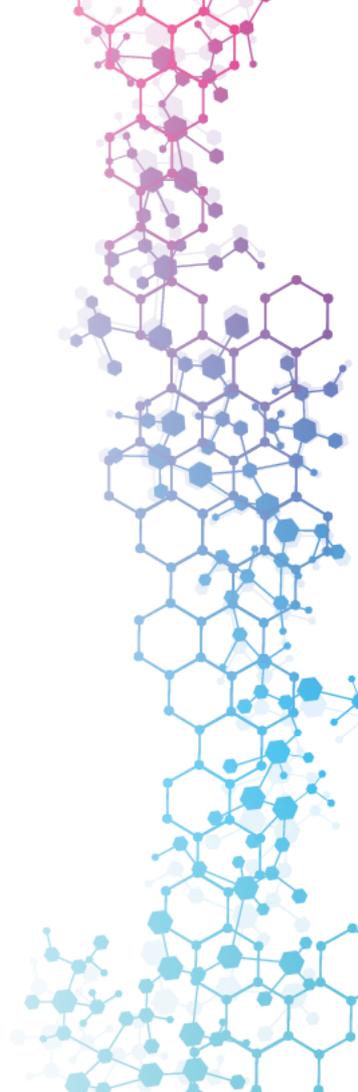
2011 : Anti-CTLA4



6 : Anti PD1, Anti PDL1
 19 types de cancers
 2 signatures agnostiques dMMR/TMB
 1 biomarqueur : PDL1

QUESTION : Quels marqueurs de réponse à l'immunothérapie utilisez-vous en routine ?

- **TPS IHC PDL1 (score tumoral)**
- **CPS IHC PDL1 (score combiné)**
- **TMB**
- **Statut MSI (test moléculaire)**
- **Statut MSI (IHC MMR)**

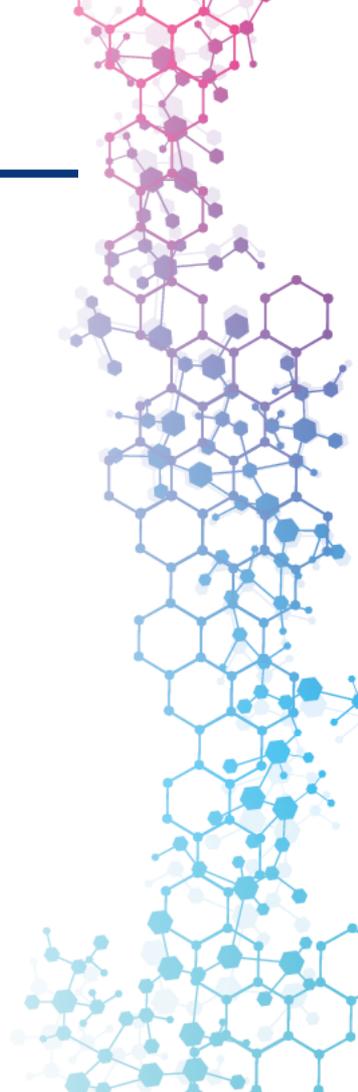


Le point de vue des cliniciens

Clinicians' perspective on use of immune checkpoint inhibitors and related biomarkers for solid tumors

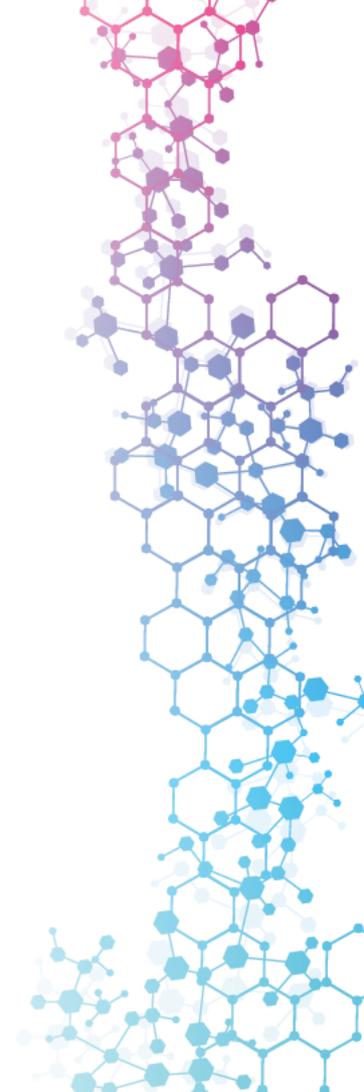
 Kaitlynn Moser, Michelle Soto,  Daniela Geba, Paul Allen,  Klaus Lindpaintner

doi: <https://doi.org/10.1101/2022.04.01.22269254>



QUESTION : Parmi les propositions suivantes laquelle vous semble la plus réaliste concernant le nombre de patients éligibles (AMM) à un ICIs et répondeurs à l'ICI

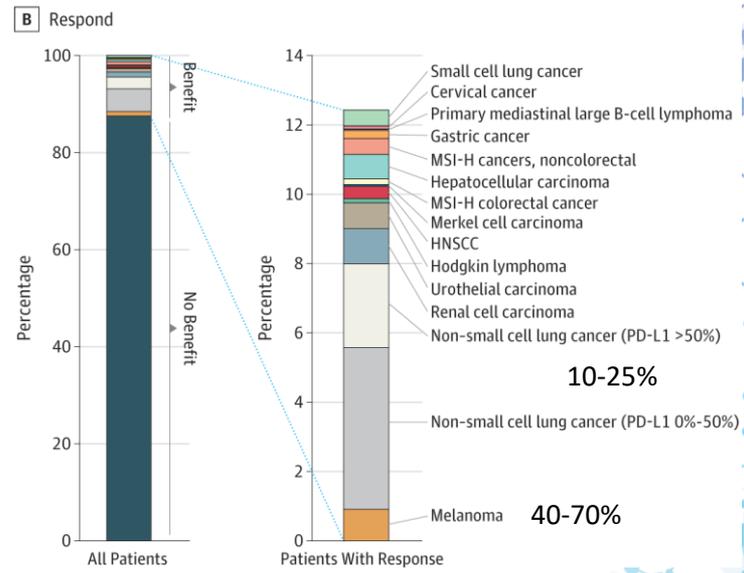
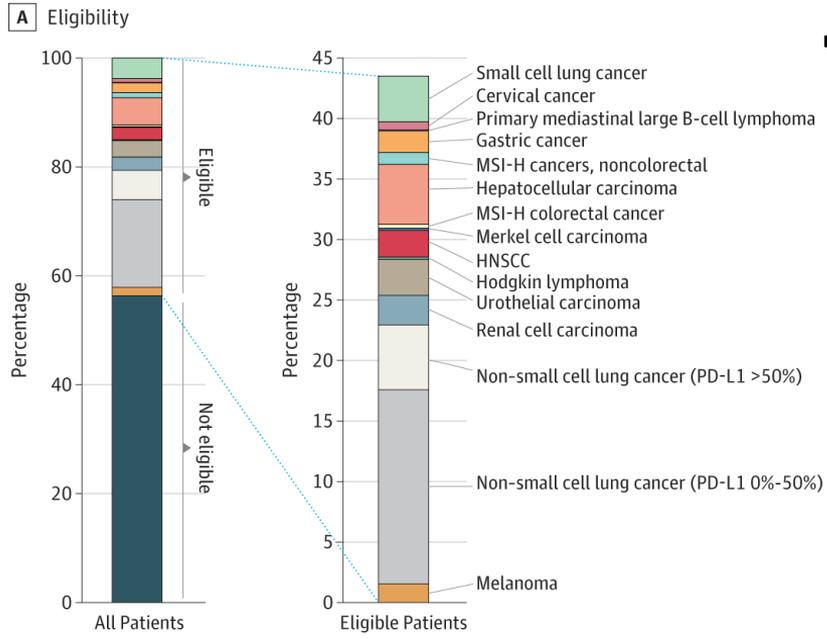
- Eligibles 20% /répondeurs 30%
- Eligibles 40% /répondeurs 30%
- Eligibles 40% /répondeurs <20%



Estimation of the Percentage of US Patients With Cancer Who Are Eligible for and Respond to Checkpoint Inhibitor Immunotherapy Drugs

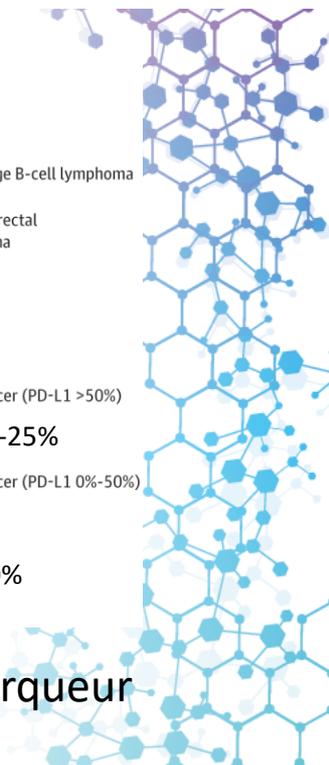


- Le % de patients éligibles à un traitement par ICI a été X 30 en 9 ans
- Environ 40% des patients vont bénéficier au cours de leur prise en charge d'un ICI



- 15% des patients ont une réponse objective

Type de tumeur = 1^{er} biomarqueur

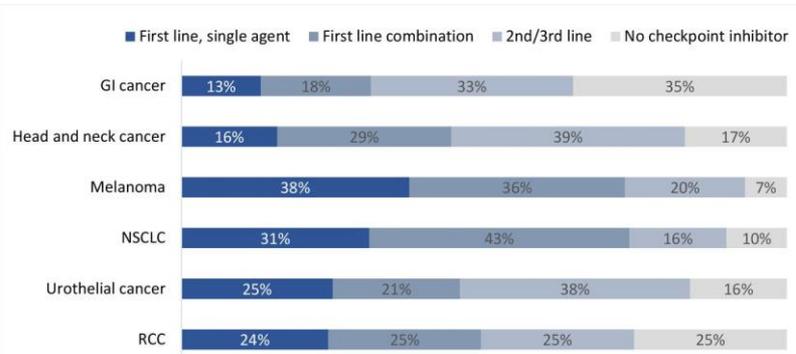


Clinicians' perspective on use of immune checkpoint inhibitors and related biomarkers for solid tumors

 Kaitlynn Moser, Michelle Soto,  Daniela Geba, Paul Allen,  Klaus Lindpaintner

doi: <https://doi.org/10.1101/2022.04.01.22269254>

- To examine clinicians' perspective on the use of ICI and biomarkers for treatment of malignant tumors
- Interviews : 108 clinicians (US) de centres spécialisés ou non



La prescription d'ICIs ?

- 98% rapportent utiliser les ICIs dans toutes les indications (AMM/FDA)
- 37% rapportent n'avoir jamais utilisé d'ICIs hors AMM

Les difficultés / prescription d'ICIs ?

- Le manque de fiabilité des marqueurs prédictifs est scoré : 4.4/7

La réponse aux ICIs ?

- Le manque d'efficacité des ICIs est scoré problématique par <20%
- L'étude rapporte 50% patients répondeurs aux ICIs (déclaratif des médecins référents) / Surestimation de l'efficacité

Clinicians' perspective on use of immune checkpoint inhibitors and related biomarkers for solid tumors

 Kaitlynn Moser, Michelle Soto,  Daniela Geba, Paul Allen,  Klaus Lindpaintner

doi: <https://doi.org/10.1101/2022.04.01.22269254>

Situations pour lesquelles un test de prédiction est utilisé ?

- PDL1
99% NSCLC, 82% Uro, 81% HNSC
- MSI
87% GI (57% NSCLC?)
- Un panel large (TMB)
69% Pancancer

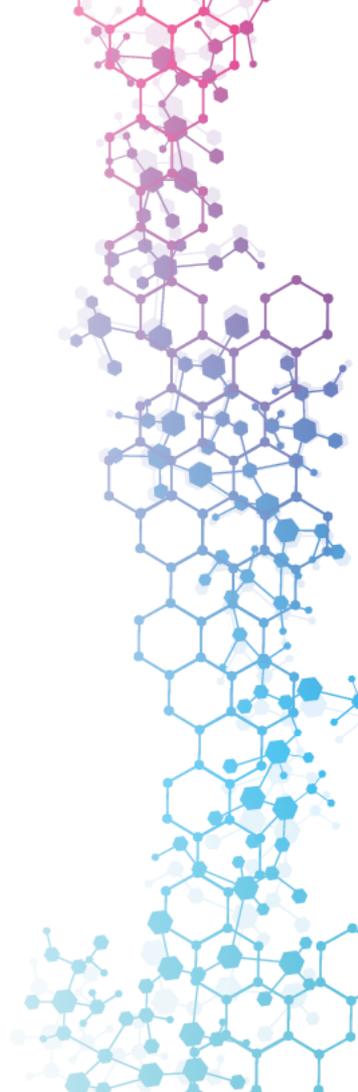
Situations pour lesquelles un test de prédiction n'est pas utilisé ?

Pour une majorité des médecins interrogés

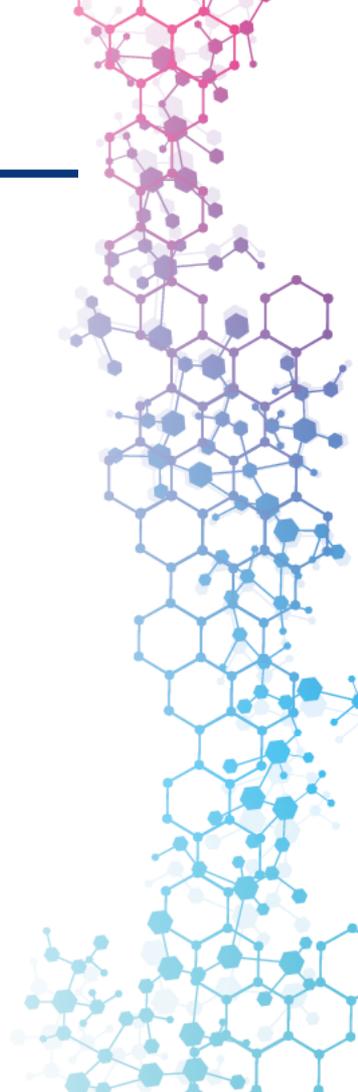
- Pas de tests pour RCC, MEL



Sans impact sur la prise en charge



Quels biomarqueurs ?



PDL-1

Différence scores, différents anticorps

$$\text{TPS (\%)} = \frac{\text{Number of PD-L1-stained tumour cells}}{\text{Total number of viable tumour cells}} \times 100\% \text{ (for 22C3 or SP263)}$$

$$\text{TC (\%)} = \frac{\text{Number of PD-L1-stained tumour cells}}{\text{Total number of viable tumour cells}} \times 100\% \text{ (for SP142)}$$

$$\text{IC (\%)} = \frac{\text{Area of tumour infiltrated by PD-L1-stained immune cells}}{\text{Total tumour area}} \times 100\% \text{ (for SP142)}$$

$$\text{CPS} = \frac{\text{Number of PD-L1-stained cells (tumour cells, lymphocytes and macrophages)}}{\text{Total number of viable tumour cells}} \times 100 \text{ (for 22C3)}$$

Meta-analyse

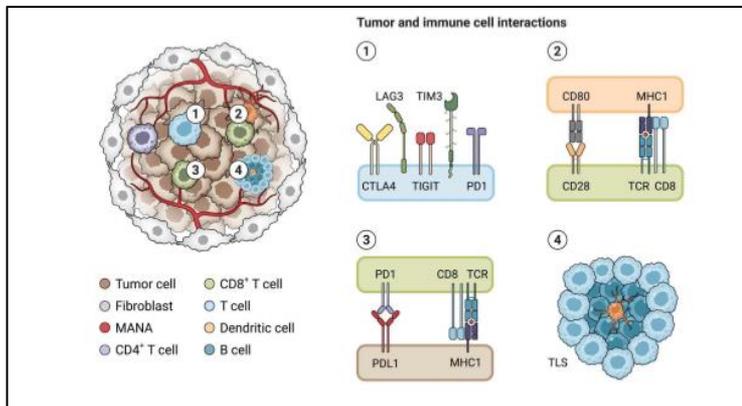
45 essais d'enregistrement pour des ICI 2011-2019



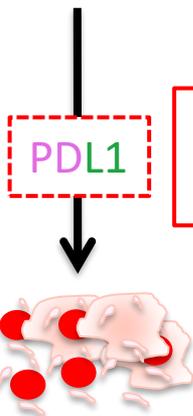
- Valeur + de PDL1 est prédictive dans 28,9% des essais
- Valeur + de PDL1 est non prédictive dans 53,3% des essais
 - Non testé dans 17,8%



- **Sensibilité 64%, spécificité 49%**



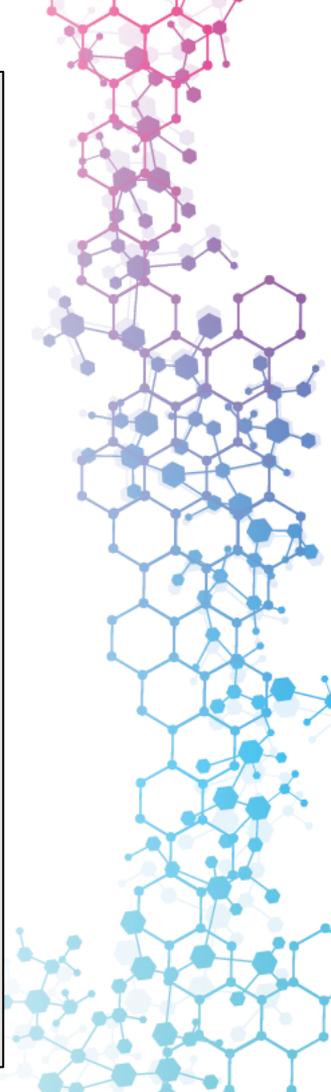
Marqueurs
Cellulaires ?



Marqueurs
Moléculaire ?

Table 1. Established and emerging biomarkers for cancer immunotherapy.

Biomarker	Context	References
<i>Clinically integrated</i>		
PD-L1 expression by IHC	Pan-cancer, NSCLC, urothelial carcinoma, triple-negative breast cancer	(18, 21–23)
MSI	Pan-cancer, colorectal cancer	(39, 42, 43)
TMB	Pan-cancer, melanoma, NSCLC	(14, 26–30)
<i>Emerging and context-specific</i>		
Clonal TMB	Pan-cancer	(36, 44, 45)
MANA quality	Pan-cancer	(53, 54, 59, 61, 62)
HLA diversity	Pan-cancer	(37, 64, 65)
Oncogenic drivers of immune suppression (PTEN, Wnt, JAK1/2, STK11, MYC, and EGFR)	Pan-cancer	(37, 73–76)
Neoantigen loss	NSCLC	(85)
Gene expression profiles	Pan-cancer	(87)
Tertiary lymphoid structures	Melanoma, renal cell carcinoma, sarcoma	(88–90)
T cell repertoire	Pan-cancer	(96, 97)
ctDNA	Pan-cancer	(99, 102–104, 108, 109, 113, 114)



NSCLC, altérations thérapeutiques et immunothérapie

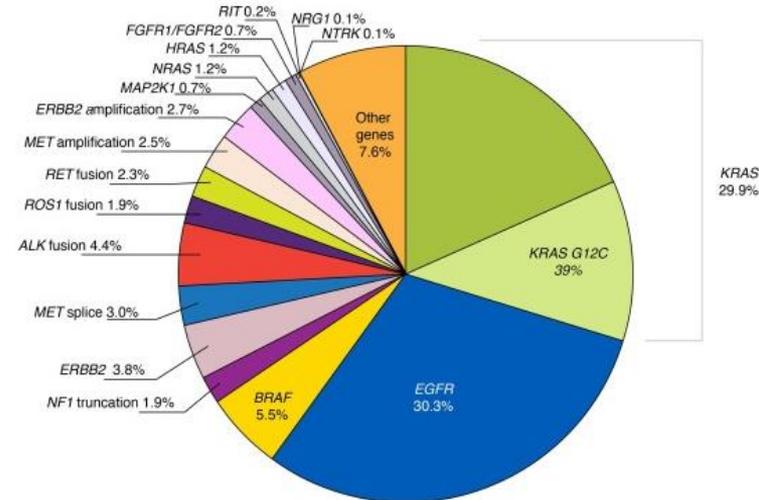
L'utilisation des ICIs pour les patients avec driver oncogénique

- Controversée
- **Non controversée (KRAS)** : stratégie de traitement : séquence ICIs/ thérapie ciblée

Généralités

- Données disponibles
 - **EGFR ALK exclus** des essais et les données pour les autres drivers sont souvent peu explicites
 - Analyse **de sous-groupes** des essais (Phase I ou II)
 - Analyses **rétrospectives** en « vie réelle »
- TMB bas
- Environnement peu inflammatoire
- Infiltration faible en CD8+

Mauvais candidats



Driver oncogéniques cas des NSCLC



Annals of Oncology 30: 1321–1328, 2019
doi:10.1093/annonc/mdz067
Published online: 24 May 2019

ORIGINAL ARTICLE

Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry

- **Question:** Is immunotherapy efficient in patients with lung cancer and harboring an oncogenic addiction?

Eligible patients had (i) a pathologic diagnosis of lung cancer; (ii) local testing positive for at least one oncogenic driver mutation: **EGFR** (exon 18–21) activating mutation, **HER2** (exon 20) activating mutation, **KRAS** mutation, **BRAF** (exon 15) mutation, **MET** amplification or exon 14 mutation, **ALK** rearrangement, **ROS1** rearrangement or **RET** rearrangement; (iii) **single agent ICI** therapy with commercial anti-PD1/PD-L1-antibodies; (iv) local response assessment according to RECIST1.1 criteria; (v) follow-up with survival status.



Table 2. PFS according to primary oncogenic driver from initiation of ICI

	EVT/N	Median PFS [95% CI] (months)	6-month PFS [95% CI]	12-month PFS [95% CI]
KRAS	208/271	3.2 [2.7; 4.5]	37.9 [32.1; 49.8]	25.6 [20.2; 31.3]
EGFR	117/125	2.1 [1.8; 2.7]	18.4 [12.1; 25.6]	6.4 [2.7; 12.1]
BRAF	34/43	3.1 [1.8; 4.6]	32.1 [18.3; 46.6]	18.0 [7.2; 32.7]
HER2	23/29	2.5 [1.8; 3.5]	22.7 [8.9; 40.2]	13.6 [3.6; 30.1]
MET	26/36	3.4 [1.7; 6.2]	36.5 [20.7; 52.4]	23.4 [10.6; 39.0]
ALK	21/23	2.5 [1.5; 3.7]	11.8 [2.2; 30.2]	5.9 [0.4; 23.0]
ROS1	-	-	-	-
RET	15/16	2.1 [1.3; 4.7]	14.1 [2.3; 35.9]	7.0 [0.4; 27.1]

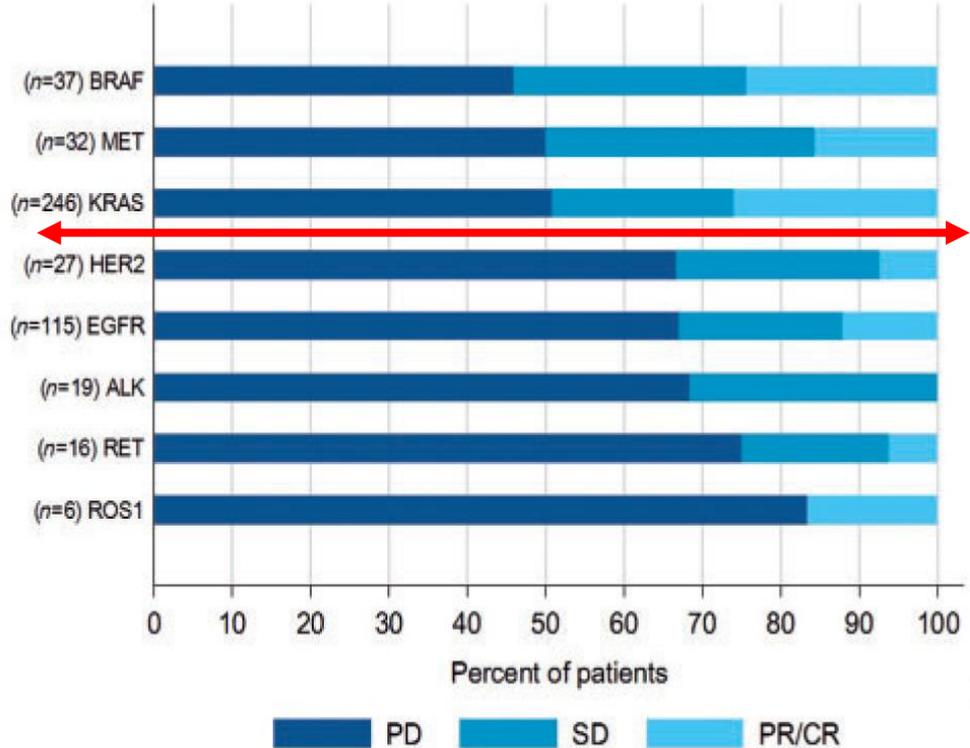
EVT, event; N, number.

2 groupes de patients ?

EGFR
HER2
ALK
ROS1
RET

KRAS
BRAF
MET

Patients' outcome treated with ICI monotherapy were consistent with ICI registration trials in the KRAS-subgroup but were **inferior for patients with actionable driver mutations**. ICI should thus only be considered **after exhaustion of targeted and standard therapies**.



2 groupes de patients ?

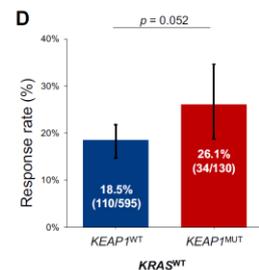
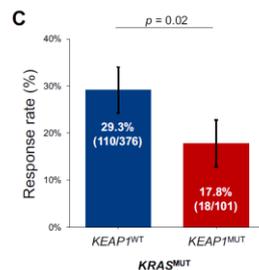
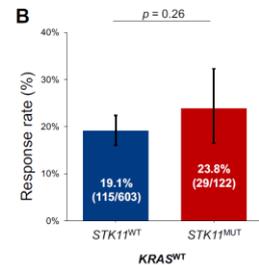
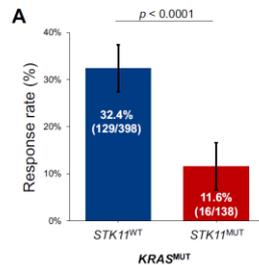
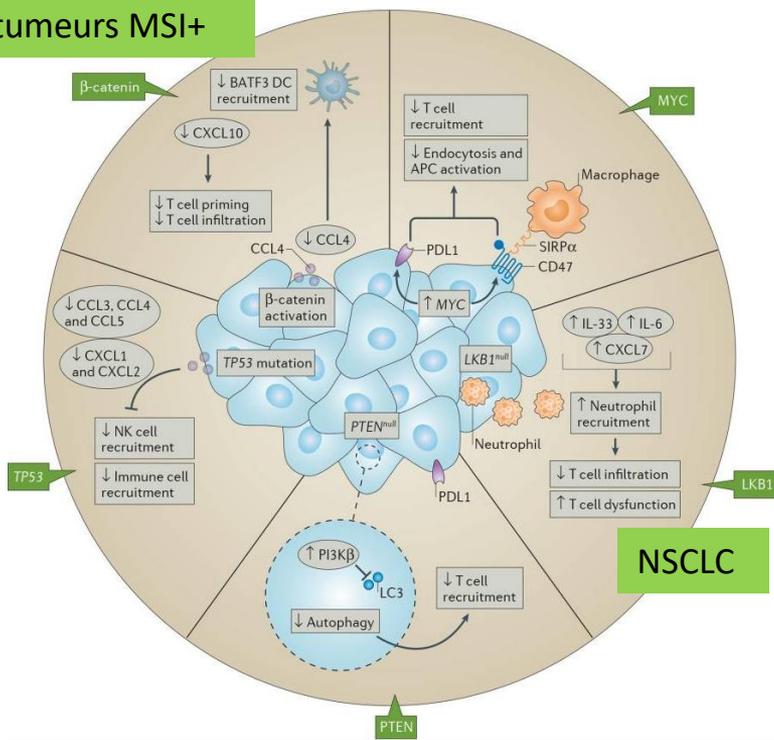
EGFR
HER2
ALK
ROS1
RET

KRAS
BRAF
MET



Autres altérations génétiques

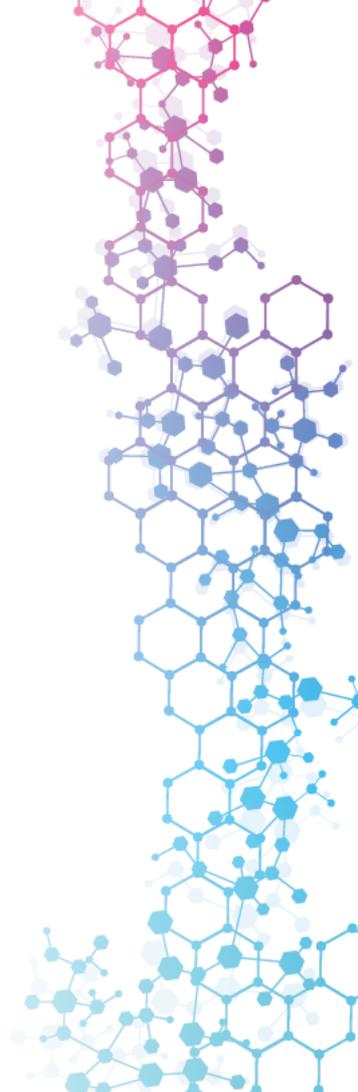
HCC
tumeurs MSI+



Dépendance
vis-à-vis de
co-mutations

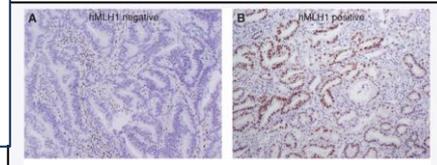
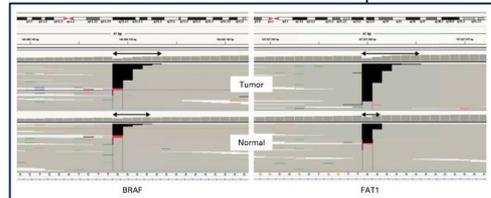
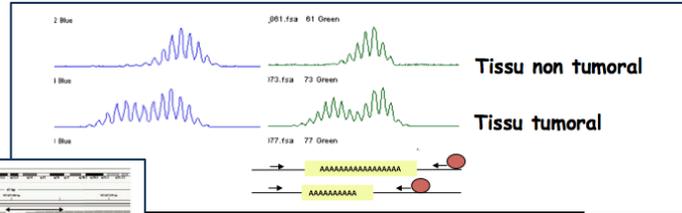
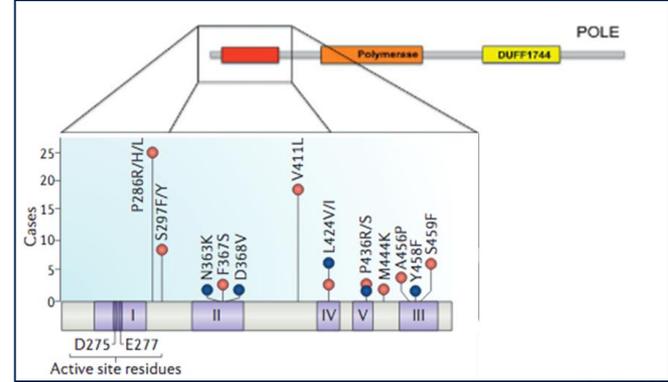
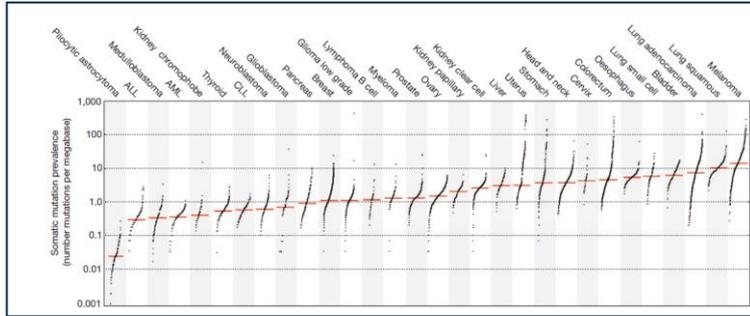
Dans votre pratique

- Avant la L1 une recherche exhaustive (EGFR KRAS BRAF MET ALK ROS1 RET) est réalisée
- Avant la L1 une recherche EGFR, KRAS, BRAF, ALK sont testés en 1ere intention
- STK11 et/ou KEAP1 sont compris dans les panels NGS



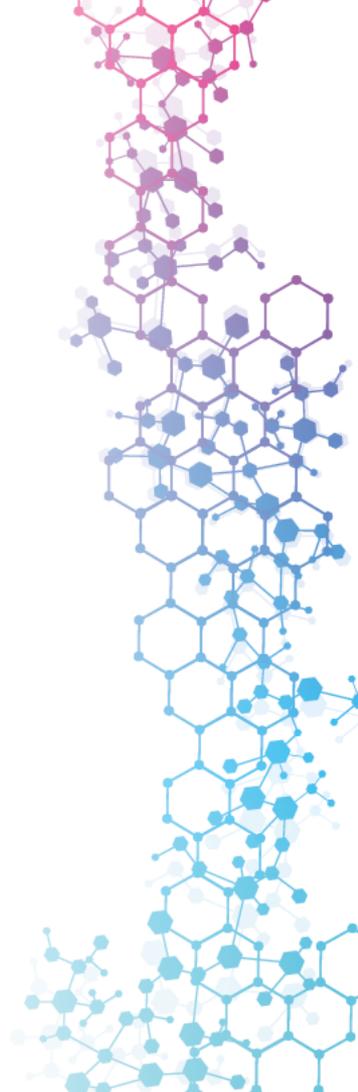
Biomarqueurs moléculaires

TMB, MSI, POLE



QUESTION : Avez-vous mis en place un panel permettant le calcul du TMB, avez-vous accès à une plateforme capable de réaliser ce test ?

- **En place localement**
- **Accessible sur une plateforme partenaire**
- **Pas d'accès au test**
- **Accessible via Sequoia Auragen**



TMB et ICI, impact dans les différents types de cancers

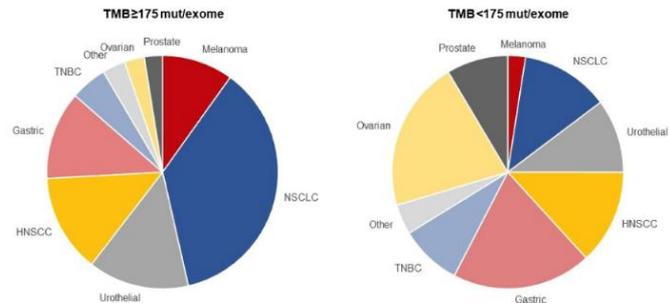
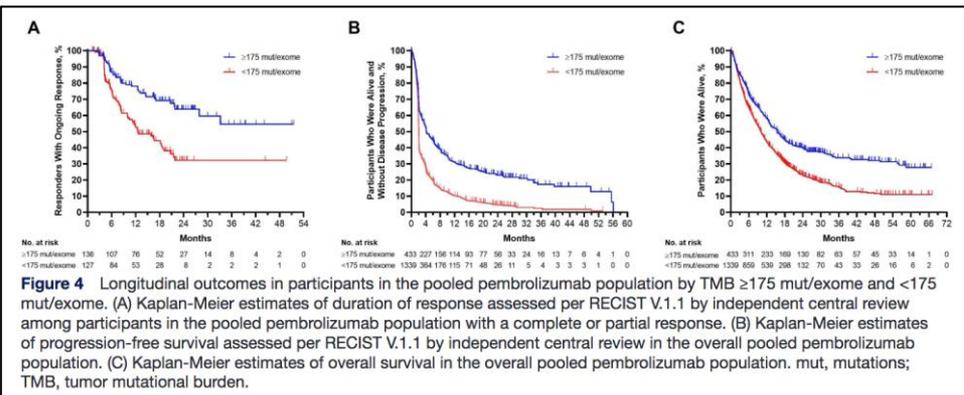
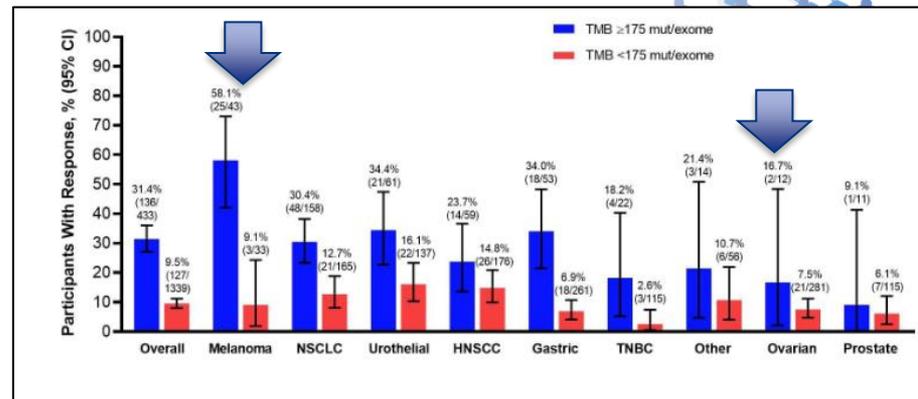


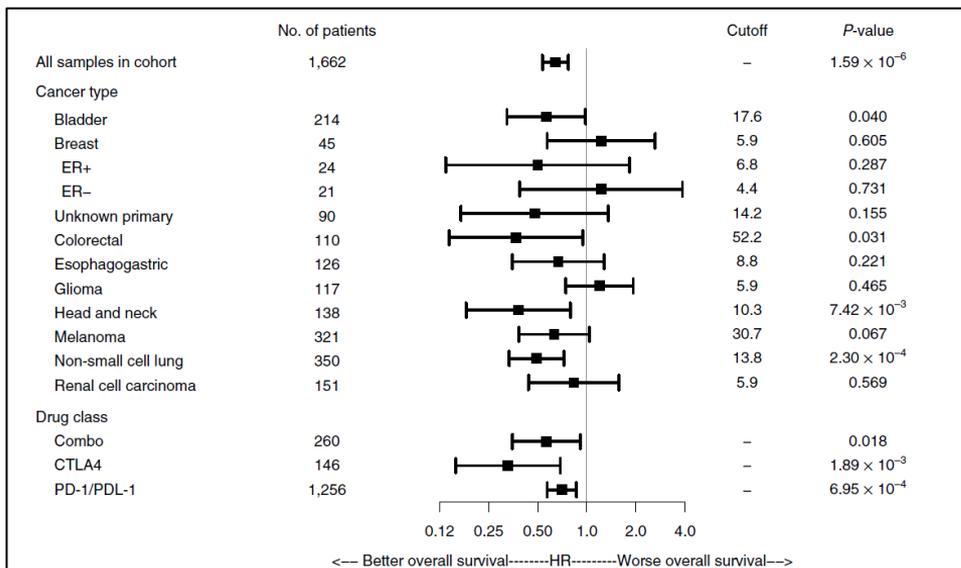
Figure 2 Proportion of participants in the pooled pembrolizumab population with whole-exome sequencing TMB ≥ 175 mut/exome and TMB < 175 mut/exome by tumor type. The tumor types are presented in order of descending median tumor mutational burden. For a listing of tumor types included in the 'other' category, see online supplemental table S2. HNSCC, head and neck squamous cell carcinoma; mut, mutations; NSCLC, non-small-cell lung cancer; TMB, tumor mutational burden; TNBC, triple-negative breast cancer.

12 clinical trials across 24 tumor types (US FDA approval)

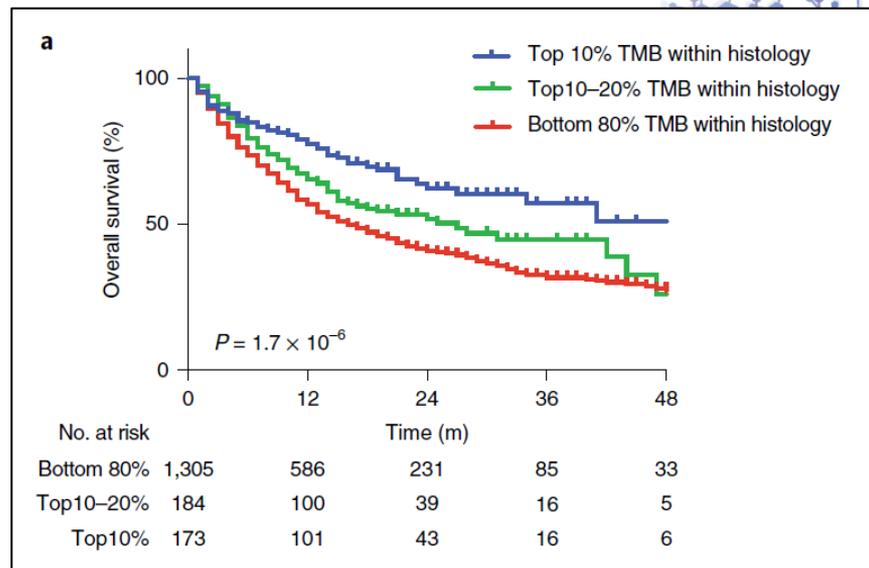


TMB et ICIs, impact dans les différents types de cancers

1,662 advanced cancer patients treated with ICI



Prise en compte du type de cancer



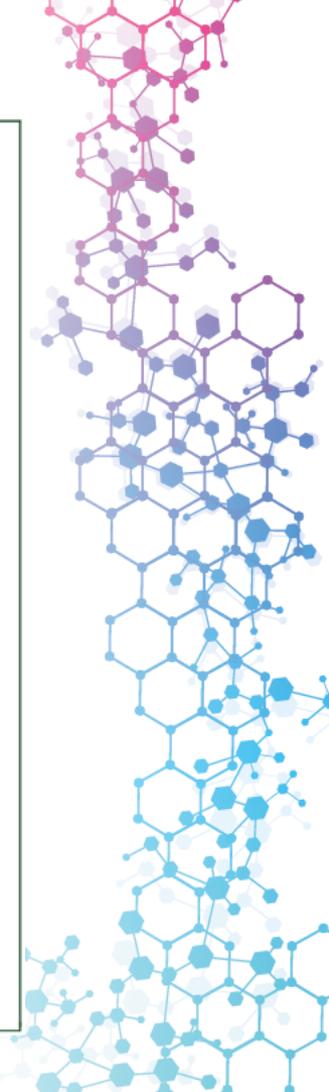
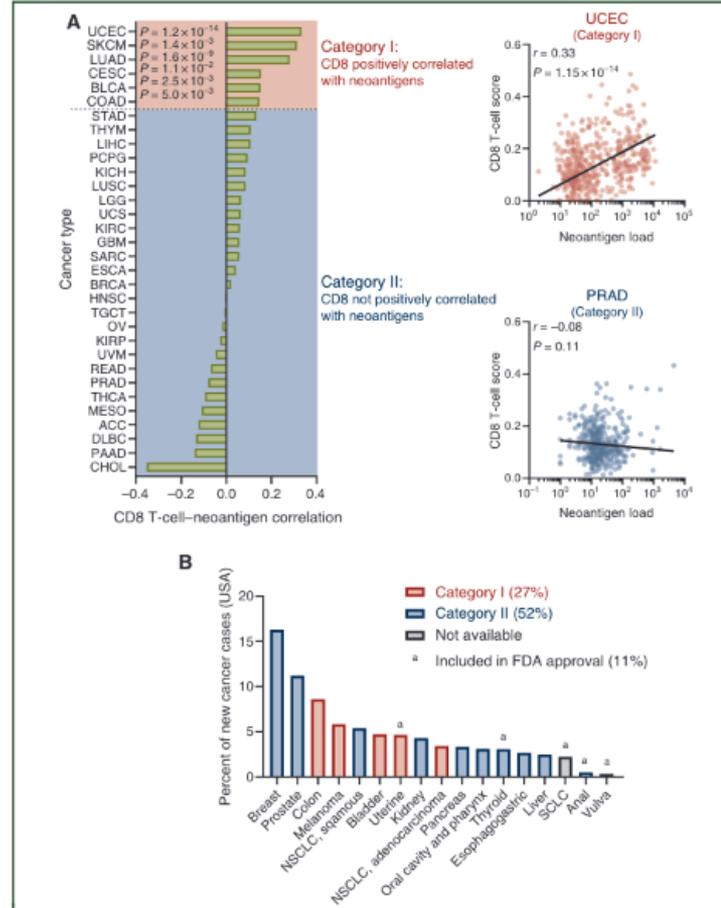
Original Article

High tumor mutation burden fails to predict immune checkpoint blockade response across all cancer types

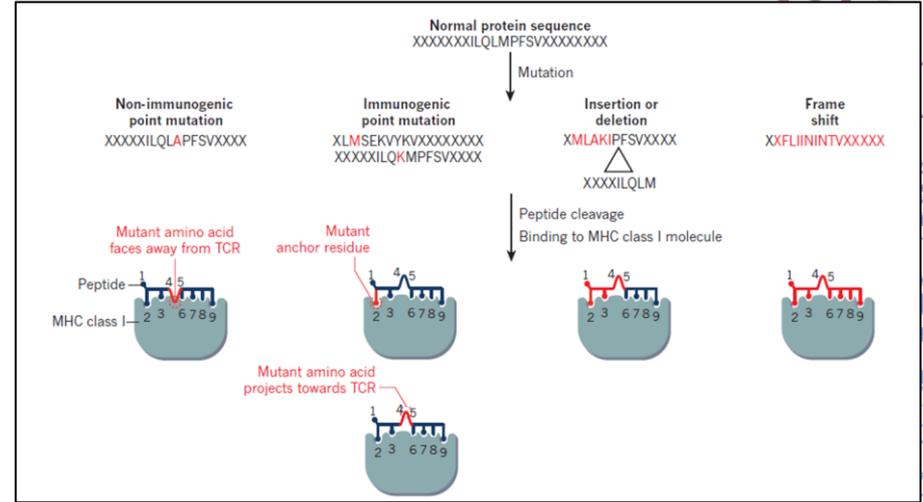
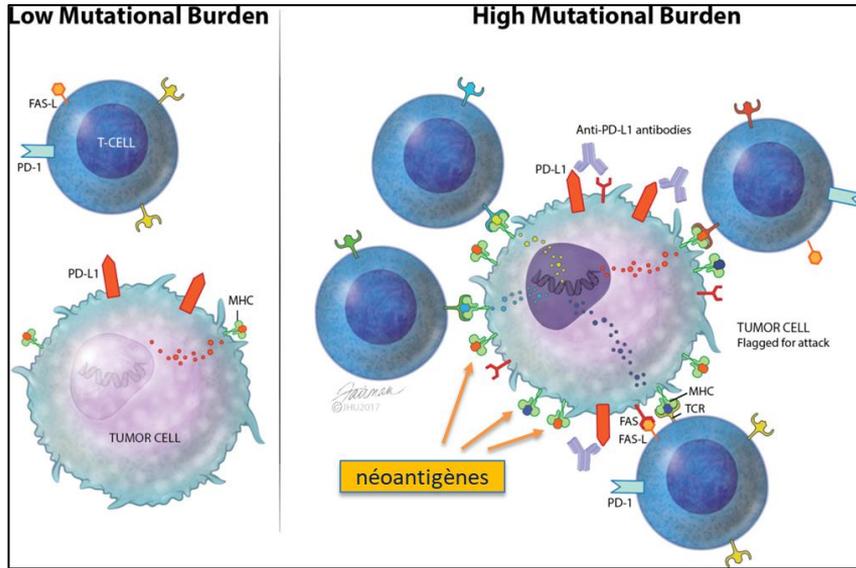
D.J. McGrail¹, P.G. Pilié², N.U. Rashid^{3,4}, L. Voorwerk⁵, M. Slagter^{6,7,8}, M. Kok^{5,9}, E. Jonasch², M. Khasraw¹⁰, A.B. Heimberger¹¹, B. Lim¹², N.T. Ueno¹², J.K. Litton¹², R. Ferrarotto¹³, J.T. Chang^{14,15}, S.L. Moulder¹², S.-Y. Lin¹

Tumeurs Catégorie 1 > TMB prédictif

Tumeurs Catégorie 2 > TMB non prédictif



La charge mutationnelle (TMB), peut on faire mieux

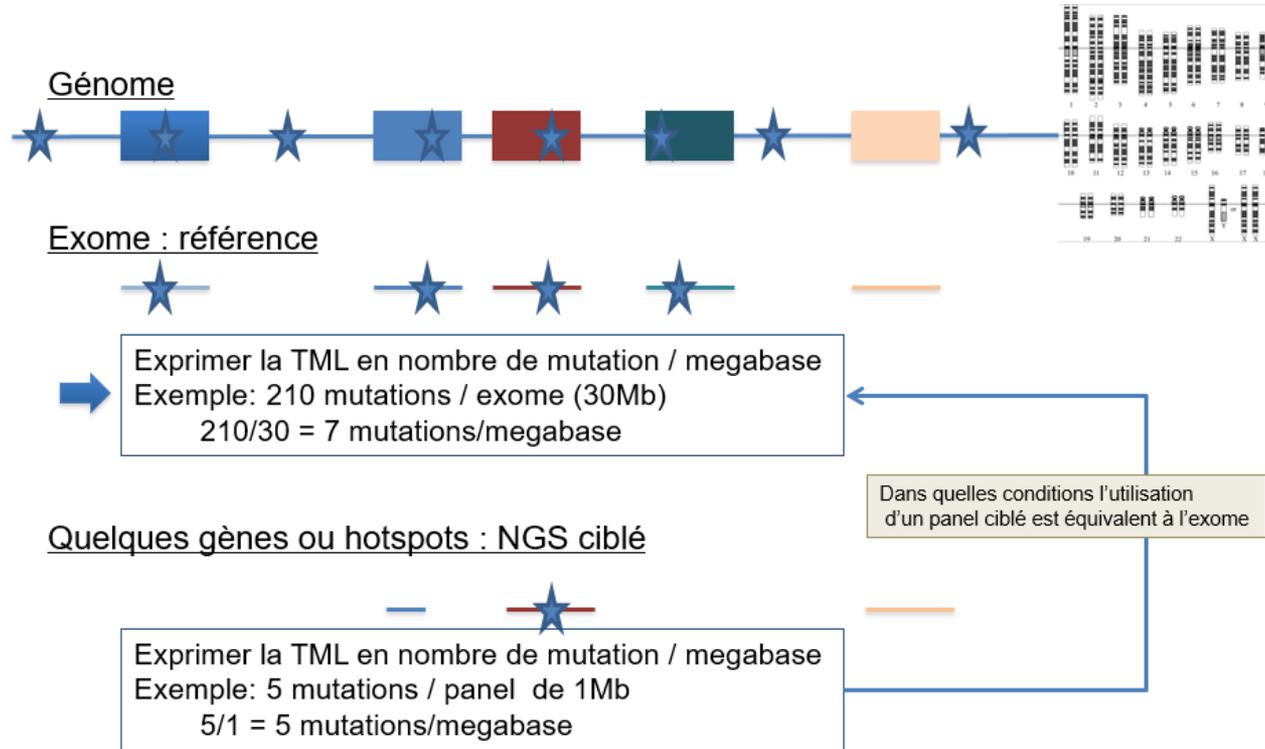


Compter le nombre de mutations →

Toutes les mutations (MANA : Mutation Associated NeoAntigen) n'ont pas le même potentiel immunogène : Charge en néoantigènes ?

Clonal TMB ?

Modalités



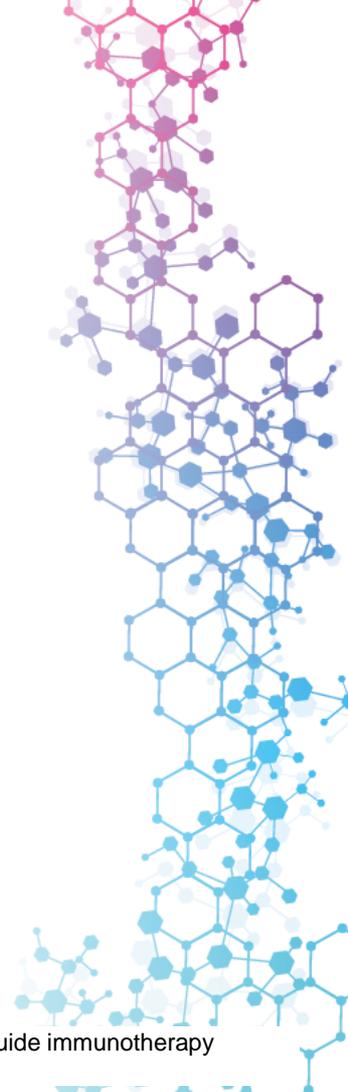
Exemple de recommandation de mise en place

- **NGS assays provide as much patient-relevant genetic/molecular information as possible**
 - actionable driver mutations
 - genes associated with mutagenesis (MMR, POLE..)
 - negative predictors of response (eg, mutated β 2M, JAK1/2, PTEN, STK11)
 - the use of external reference sequence data, generated using agreed standard methodology such as WES



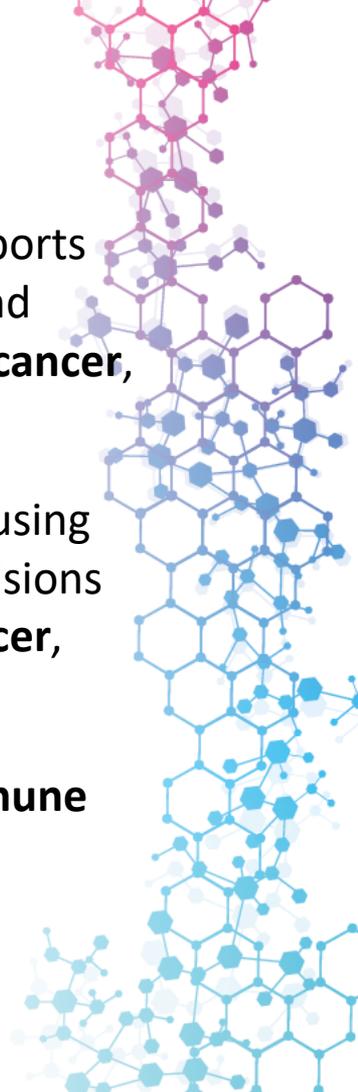
Validation

Panel TMB/ Panel comprehensive qui permet le calcul du TMB
Plateforme France Génomique 2025 Sequoia et Auragen



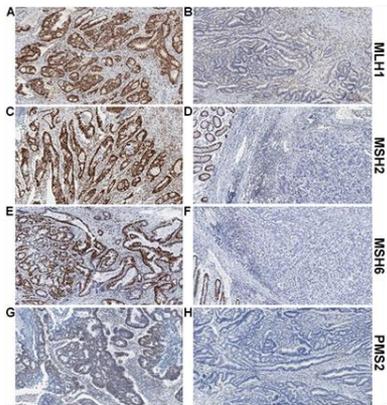
Indications du TMB

- A recent report from the ESMO Precision Medicine Working Group also supports **TMB testing for** a number of solid tumors, including **cervical cancer**, well- and moderately differentiated **neuroendocrine tumors**, **salivary cancer**, **thyroid cancer**, and **vulvar cancer**.
- Further validation of the testing approach comes from NCCN: TMB analysis using an FDA-approved test is recommended **ahead of second-line treatment** decisions for **cervical cancer uterine sarcoma** and **endometrial carcinoma**, **vulvar cancer**, **bone cancer**, and **cancer of unknown primary**.
- **Where there are no alternative treatment options**, NCCN recommends **immune checkpoint inhibition for patients with these TMB-high tumors**.



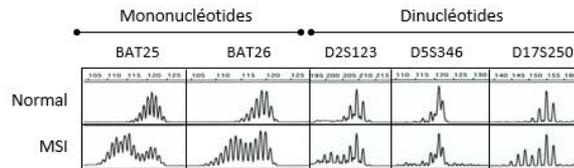
Le phénotype MSI

Immunohistochimie des protéines MMR (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2)

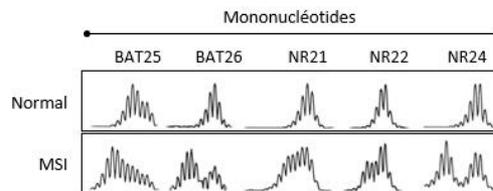


Analyse de fragments / microsattellites

Panel original de Bethesda, 1998

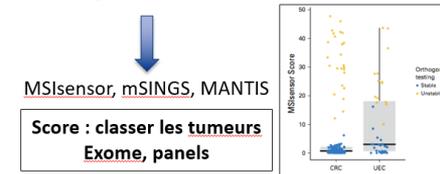
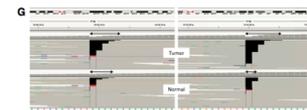


Nouvelle PCR pentaplex, 2004



Alternatives

NGS, panel exome



Test Idylla (MSS MSI invalide)
7 marqueurs

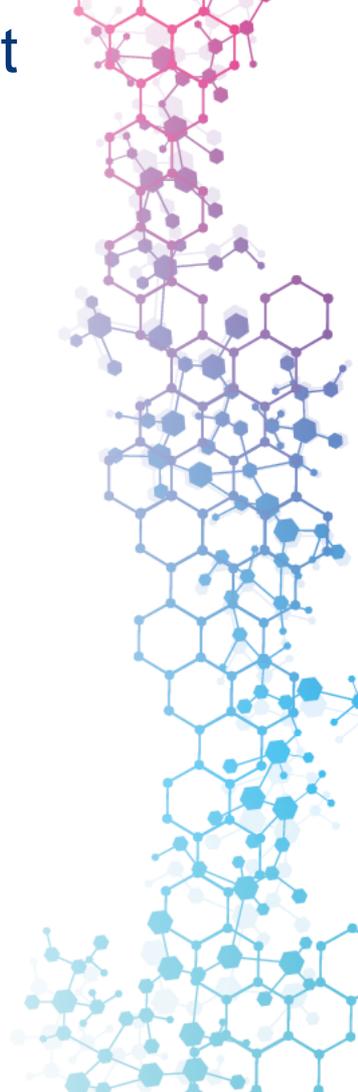
Sensibilité : 92-95%
Spécificité : 98%

Sensibilité : 91-95% (colon)
Spécificité : 98%

Sensibilité : 99%
Spécificité : 99%

QUESTION : Vous effectuez une recherche du déficit MMR

- **Systématiquement pour les CRC et K de l'endomètre**
- **Pour les patients métastatiques uniquement**
- **Pour d'autres indications**
- **En IHC**
- **En IHC et analyse de fragment**
- **En NGS**
- **En IHC et en NGS**



Le phénotype MSI : un biomarqueur pan-cancer

Pembrolizumab Response Rate by Tumor Type.*

Tumor Type	No. of Tumors	Patients with a Response	Range of Response Duration
		no. (%)	mo
Colorectal cancer	90	32 (36)	1.6+ to 22.7+
Endometrial cancer	14	5 (36)	4.2+ to 17.3+
Biliary cancer	11	3 (27)	11.6+ to 19.6+
Gastric or gastroesophageal junction	9	5 (56)	5.8+ to 22.1+
Pancreatic cancer	6	5 (83)	2.6+ to 9.2+
Small-intestine cancer	8	3 (38)	1.9+ to 9.1+
Breast cancer	2	2 (100)	7.6 to 15.9
Prostate cancer	2	1 (50)	9.8+
Other cancers	7	3 (43)	7.5+ to 18.2+

The overall **response rate**, defined by tumor size reduction (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1 [RECIST]), **was 39.6%** (95% confidence interval [CI], 31.7 to 47.9).

Responses lasted 6 months or more in 78% of patients who had a response.

Approbation de la FDA en février 2017 pour le « traitement de patients adultes et pédiatriques atteints de tumeurs solides non résécables ou métastatiques présentant **une instabilité microsatellitaire élevée (MSI-H) ou une perte des protéines du mismatch repair (dMMR)** après un traitement antérieur et pour lesquels il n'existe pas d'alternative thérapeutique satisfaisante

EMEA 2022

CCRm après une chimiothérapie (combo+fluoropyrimidine) ou L1; **EC** post platine/ pas de traitement local (chir/radio); **gastrique; grêle; voies biliaires**

ICIs in MSI high cancers peut on faire mieux?

Science

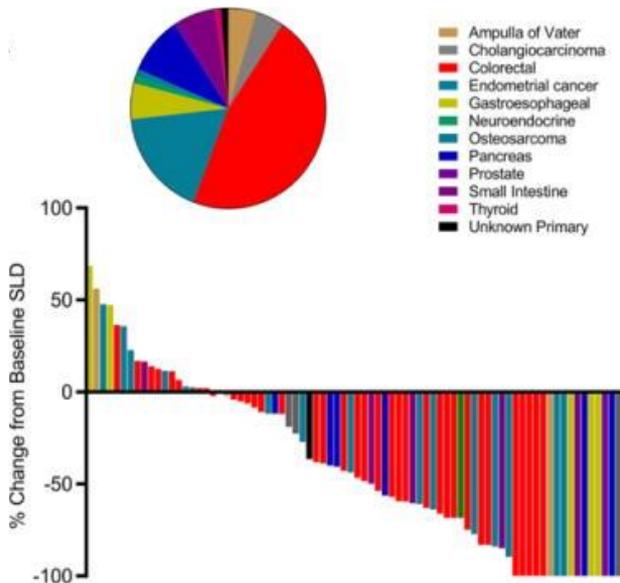
Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade

Dung T. Le, Jennifer N. Durham, Kellie N. Smith, Hao Wang, Bjørn R. Barseth, Laveet K. Audakh, Steve Lu, Holly Kemberling, Cara Witt, Brandon S. Luber, Fay Wong, Mider S. Akad, Agnieszka A. Ruski, Dan Lichten, Ross Dornhoffer, Ash Zelen, George A. Fisher, Todd S. Crocenzi, James J. Lee, Tim F. Grotzer, Austin G. Duffy, Kristen K. Combor, Aleksandra D. Eyring, Bao H. Lam, Andrew Joo, S. Peter Kang, Marilee Hoodoff, Ludmila Danilova, Leslie Cook, Christian Meyer, Shihon Zhou, Richard M. Goldberg, Deborah K. Armstrong, Katherine M. Bever, Amanda N. Fader, Janis Taube, Franck Houssiau, David Spigel, Haining Jiao, Drew M. Pardoll, Nickolas Papadopoulos, Kenneth W. Kinzler, James R. Eshleman, Bert Vogelstein, Robert A. Anders and Luis A. Diaz Jr.

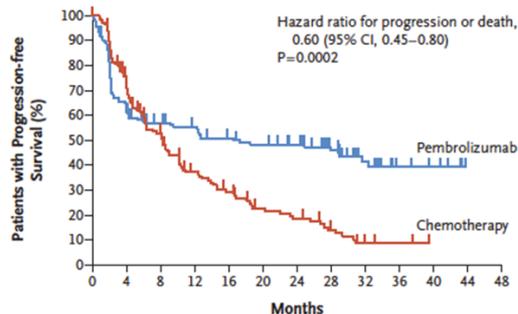
Science 357 (6349), 409-413.
DOI: 10.1126/science.1257631 originally published online June 8, 2017

Essai de phase 2 :

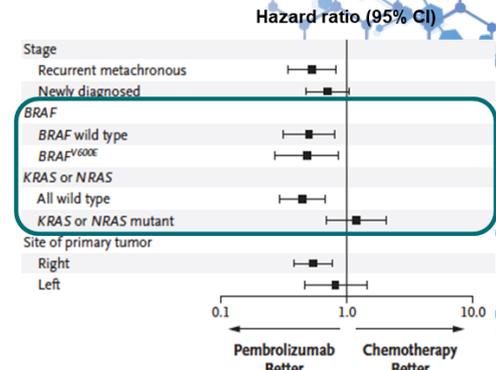
Pembrolizumab chez patients MSI
Réponse radiologique à 20 semaines



Préciser l'impact pronostique (CRC)



Keynote 177: Phase 3 open label mFOLFOX6 (oxiplatin, leucovovin, 5FU) vs Pembrolizumab for MSI-H colorectal cancer (CRC)

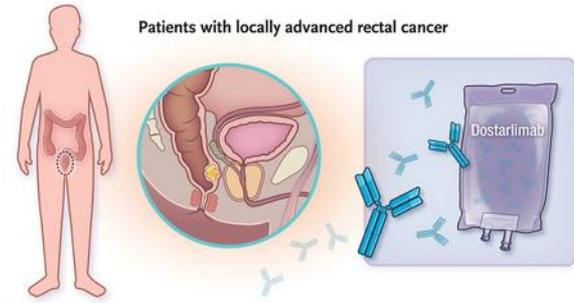


Profil moléculaire !!

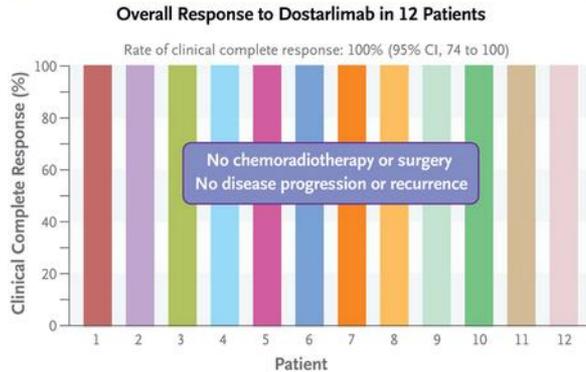
MSI-H or dMMR in localized disease

PD-1 Blockade in Mismatch Repair–Deficient, Locally Advanced Rectal Cancer

Andrea Cercek, M.D., Melissa Lumish, M.D., Jenna Sinopoli, N.P., Jill Weiss, B.A., Jinru Shia, M.D., Michelle Lamendola-Essel, D.H.Sc., Imane H. El Dika, M.D., Neil Segal, M.D., Marina Shcherba, M.D., Ryan Sugarman, M.D., Ph.D., Zsofia Stadler, M.D., Rona Yaeger, M.D., [et al.](#)



Changement des recommandations de traitement ?



MSI-H or dMMR in localized disease

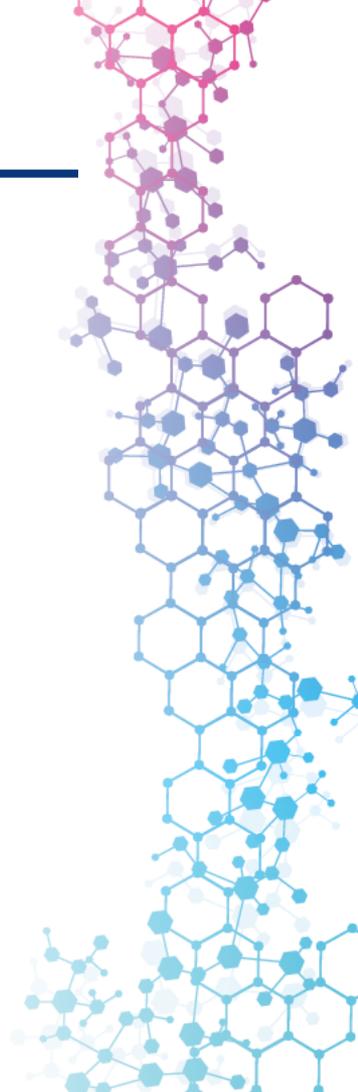
- NICHE-2 trial, as reported at ESMO Congress 2022
- 112 patients with **non-metastatic dMMR colon cancer** received one dose of ipilimumab (1 mg/kg) and two doses of nivolumab (3 mg/kg) ≤6 weeks prior to surgery.
- **pathological response was observed in 99%** of patients, with MPR and pCR achieved in 95% and 67% of patients, respectively.
- No patients had disease recurrence after a median follow-up of 13.1 months.
- Pas d'indication en adjuvant pour le moment



Nivo+ipi ? Nouveau standard
Analyse des biopsies diagnostiques

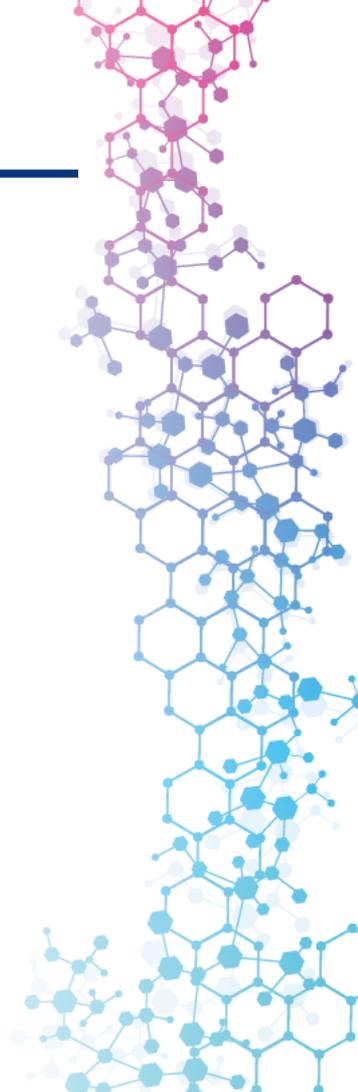


Approches transcriptomiques



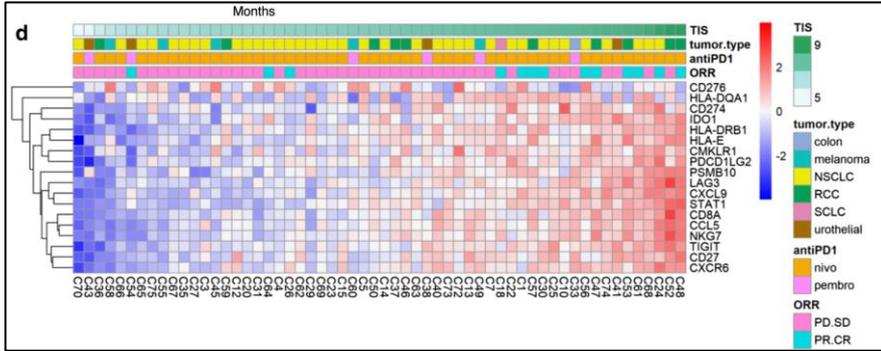
QUESTION : Dans votre pratique

- J'utilise une signature transcriptomique
- J'ai accès aux analyses RNAseq dans le cadre du plan France génomique 2025
- Je n'ai pas accès à ce type de technologie
- Cette approche n'a pas d'impact clinique



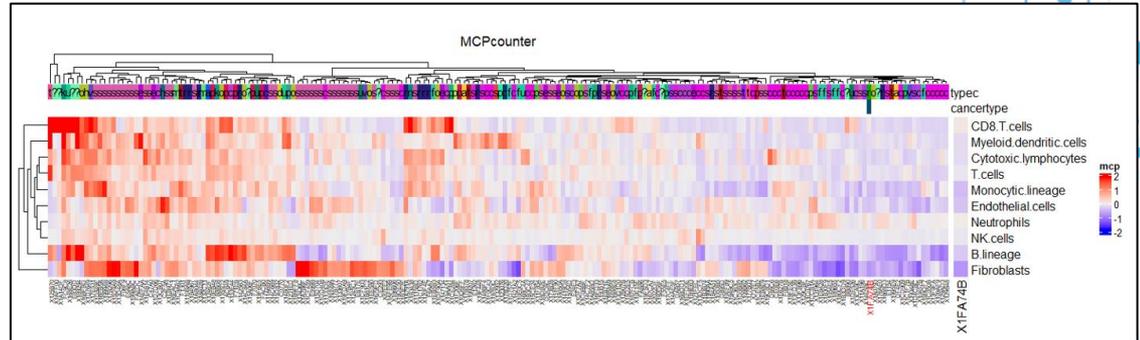
Biomarqueurs moléculaires

RNAseq et expression de gènes



Les signatures transcriptionnelles

Analyser l'infiltrat immunitaire



Damotte D, et al. The tumor inflammation signature (TIS) is associated with anti-PD-1 treatment benefit in the CERTIM pan-cancer cohort. *J Transl Med.* 2019 Nov 4;17(1):357. PMID: 31684954.

Courtesy of L Marisa (Sequoia)

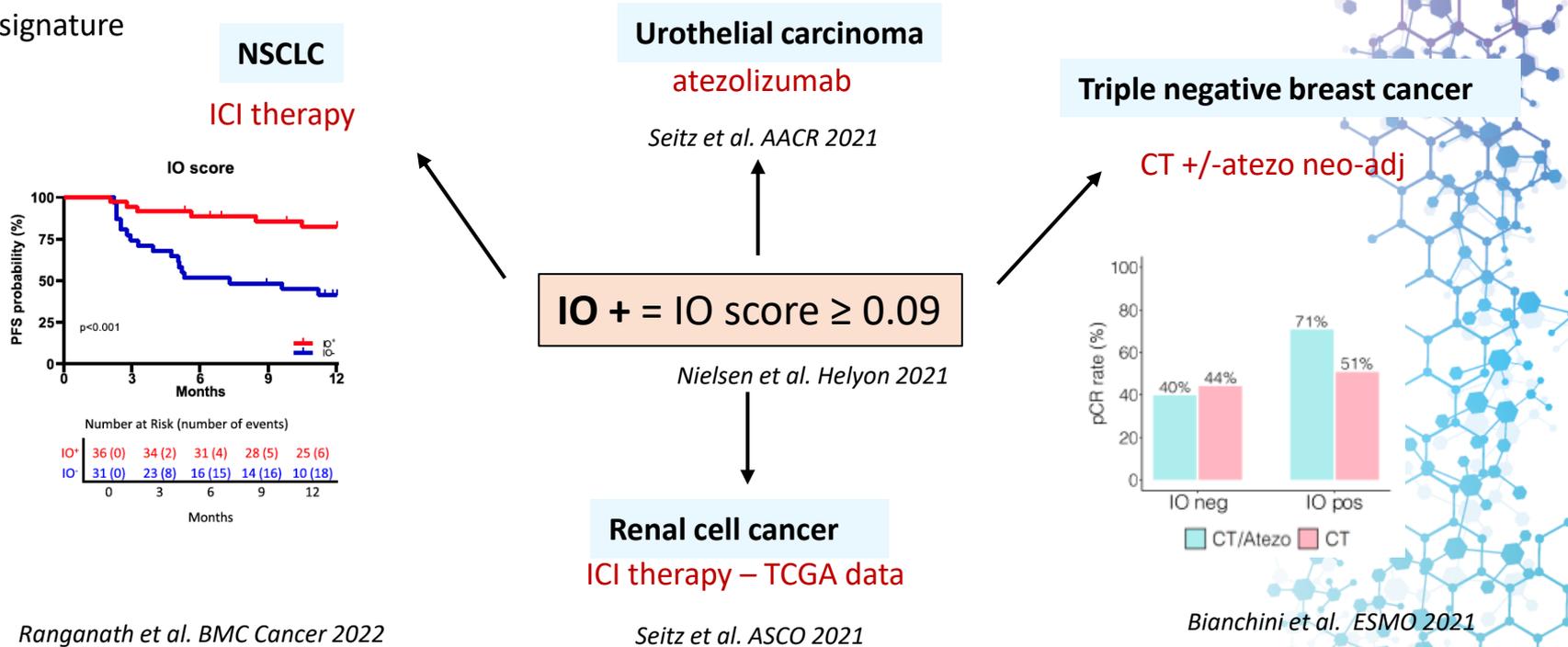
Signature IFNg, DetermaIO™ d'autres...

= immune-related 27-gene expression signature* (IO score)

developed to combined:

- Immunomodulatory signature
- EMT signature
- Stromal signature

*HGNC Gene list: APOD, ASPN, CCL5, CD52, COL2A1, CXCL11, CXCL13, DUSP5, FOXC1, GZMB, HTRA1, IDO1, IL23A, ITM2A, KMO, KRT16, KYNU, MIA, PSMB9, PTGDS, PLAAT4, RTP4, S100A8, SFRP1, SPTLC2, TNFAIP8, TNFSF10

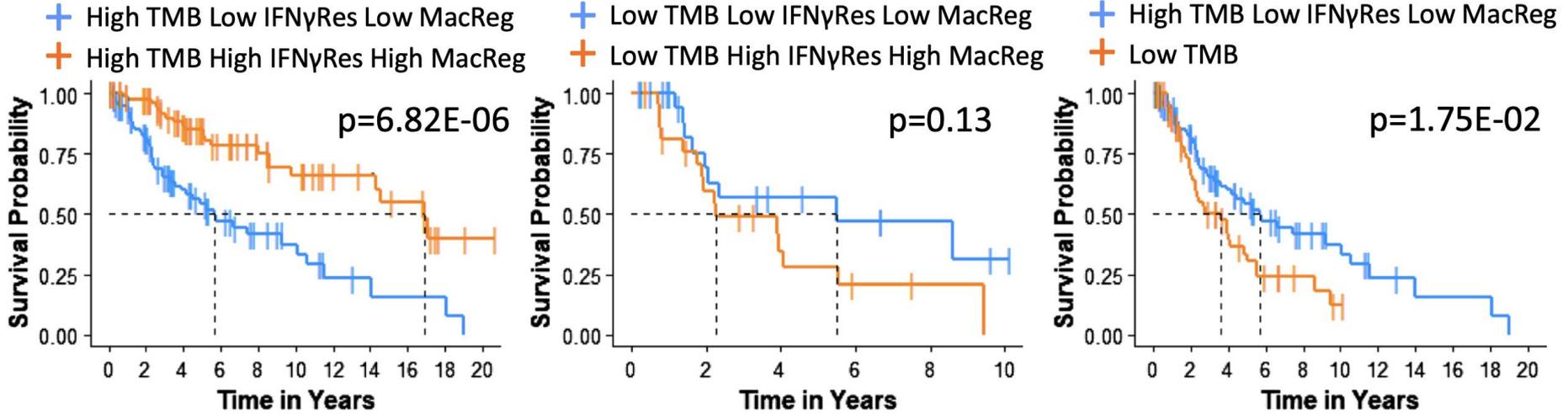


Ranganath et al. BMC Cancer 2022

Seitz et al. ASCO 2021

Bianchini et al. ESMO 2021

Combiner les marqueurs ?



Morales et al. *J Transl Med* (2021) 19:78
<https://doi.org/10.1186/s12967-021-02738-0>

Journal of
Translational Medicine

RESEARCH

Open Access

Tumor immunogenomic signatures improve a prognostic model of melanoma survival

Leah Morales^{1,2,3*}, Danny Simpson^{1,2,3*}, Robert Ferguson^{1,2,3*}, John Cadley^{1,2,3}, Eduardo Esteve^{1,2,3}, Kelsey Monson^{1,2,3}, Vylyny Chat^{1,2,3}, Carlos Martinez^{1,2,3}, Jeffrey Weber^{1,3,4}, Iman Osman^{1,3,4,5} and Tomas Kirchhoff^{1,2,3*}

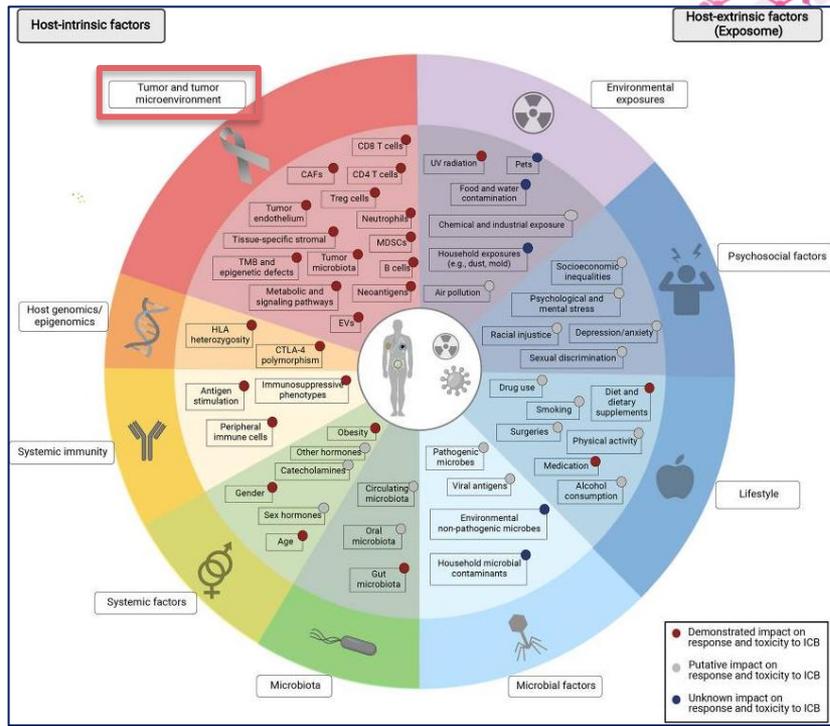
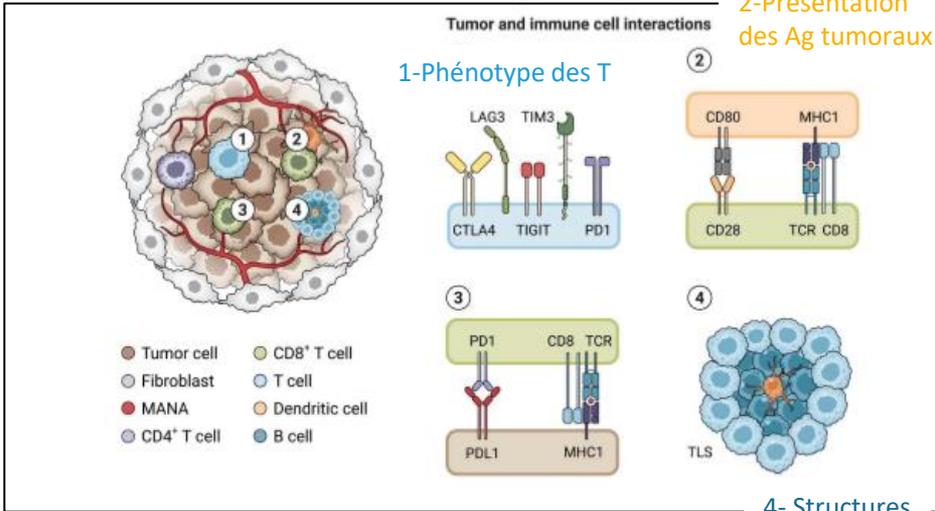


L'ESSENTIEL

- Interactions complexes de la tumeur et de son environnement
➔ PAS de biomarqueur unique idéal ➔ combinaison ?
- Utilité clinique des biomarqueurs dans certaines tumeurs
(ex: PDL1 dans poumon) ➔ vers des indications pan-tumeurs
(ex: TMB high/MSI-H)
- Impact des drivers oncogéniques et co-mutations sur la réponse
- En routine : score PDL-1 +++, statut MSI ++
- Importance de l'accès à la TMB



Une TUMEUR dans son ENVIRONNEMENT



**ET un individu et un environnement
ET un contexte (Néoadjuvant, adjuvant, métastatique)**

Approches analytiques multiples ➡ Combinaisons de biomarqueurs

MERCI DE VOTRE ATTENTION

