

Atelier
Recommandations pour analyse et
interpréter les marqueurs en immuno-
oncologie

Marius Ilié et Hélène Blons

Avec le soutien du



Groupe Français de
Cytogénomique Oncologique

Marius Ilié : Roche, AstraZeneca, Merck, Boehringer Ingelheim

Hélène Blons : AstraZeneca, Merck, Boehringer Ingelheim, Amgen

Indications

- Statut PD-L1 obligatoire – CBNPC
- Sans statut PD-L1
 - Mélanome
 - HNSCC
 - Lymphome Hodgkin classique
 - Urothélial
 - Cancers MSI-H

Mise en routine

- Niveau 1
 - Expression PD-L1 – IHC
 - Statut MSI – IHC et séq
- Niveau 2
 - Charge mutationnelle (TMB)
 - Score composite : CD8, autres
- Niveau 3/recherche
 - Impact des mutations théranostiques?
 - EGFR, ALK, KRAS...
 - Impact d’ autres mutations?
 - PTEN TP53
 - ADNtc?

Indications

- Obligatoire
- 1^{ère} ligne CBNPC IIIB/IV (épidermoïde et ADK)
dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un
pourcentage de cellules tumorales (PCT) $\geq 50\%$,
sans mutations d'EGFR ou réarrangement d'ALK
- 2^{ème} ligne CBNPC IIIB/IV après échec d'au moins
une chimiothérapie antérieure dont les tumeurs
expriment PD-L1 avec un PCT $\geq 1\%$

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Indications

Cancers MSI-H (cf. INCa Acsé)

- Cholangiocarcinome et cancer des voies biliaires
- Estomac et adénocarcinomes de l'œsophage
- Intestin grêle
- Vessie et des voies urinaires
- Endomètre
- Ovaire
- Glioblastome
 - Autres ?
 - ASCO 2017: ADK bronchiques

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Pré-analytique

- Expression PD-L1
- Si ADK bronchique stades IIIB/IV – l'expression PD-L1 doit être recherchée en parallèle du statut EGFR, ALK et ROS1 (+/- MSI)
- Conserver du matériel
- Carcinomes épidermoïdes bronchiques stades IIIB/IV
- Statut MSI (cf. INCa Acsé) : cancers MSI-H

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Pré-analytique

- Lames blanches fraîches ou conservées à 4° C si IHC réalisée > 3 jours
- Biopsie tissulaire (≥ 100 cellules tumorales)
- Pas de preuves suffisantes pour les produits de cytologie

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Analytique

- L'expression de PD-L1 doit être déterminée au moyen d'un test validé
- Quel clone ?
- LDT ?
- Rendu des résultats ?
- Contrôles internes/externes ?

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Analytique

- Les kits 22C3 (CE-IVD), 28-8 et SP263 sont concordants pour le marquage des cellules tumorales et probablement interchangeables
- Accessibilité de ces tests en termes de prix ?
- Les tests développés à partir des anticorps concentrés peuvent être utilisés si validés / accrédités
- Obligation de participer aux EEQ (AFAQAP, ESP, etc.)

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Analytique

- Le test (kit/concentré, dilution, automate) doit être indiqué
- Un « témoin » externe positif doit être utilisé
- Le résultat final et le % de cellules tumorales marquées doivent être indiqués
 - PCT < 1%, Absence d'expression de PD-L1
 - PCT 1-49%, Expression intermédiaire de PD-L1
 - PCT ≥ 50%, Forte expression de PD-L1
 - Quid % cellules immunes ?
 - Besoin de formation des pathologistes
 - Lecture en double aveugle

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Analytique

- Cf. INCa Acsé
- Une tumeur sera considérée comme présentant une déficience du système MMR en cas de perte d'expression d'une ou deux protéines MMR révélée par une IHC comprenant 4 anticorps (MLH1, MSH2, MSH6, et PMS2) ET en cas d'instabilité microsatellitaire mise en évidence en biologie moléculaire.
- Chaque laboratoire est libre d'utiliser la stratégie de testing qu'il souhaite (IHC ou bio mol en première intention)

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Analytique

- Témoin externe positif : amygdale
- Témoin externe négatif : adénocarcinome colique avec perte d'expression
- Clones cf. NordiQC
 - MLH1 : ES05, G168-15 et GM011
 - MSH2 : FE11 et G219-1129
 - MSH6 : EP49, EPR3945 et SP93
 - PMS2 : A16-4, MORG4, EP51 et EPR3947

ACCORD / DESACCORD

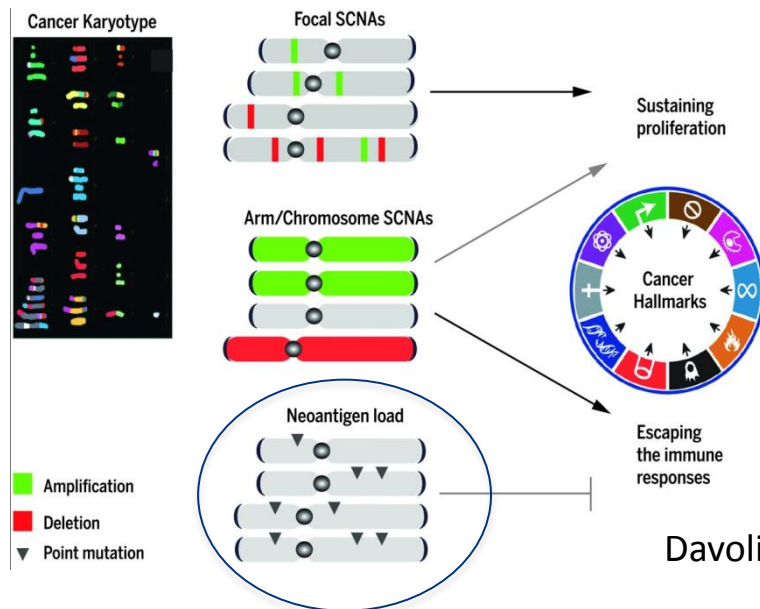
Accord de l'Atelier

Indication

- La charge mutationnelle est un marqueur prédictif de réponse à l'immunothérapie ?
- Mutations non silencieuses > néoantigènes

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier



Davoli et al science 2017

Comment ?

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

- Exome (WES) ?
- Panel de gènes ? Commerciaux ?
- Cut-off ? Range : 0,001-400 mut/Mb

Rizvi et al., Science 2015 (302/148 NSM-median)

Snyder et al., NEJM 2014 (cut-off 100 NSM)

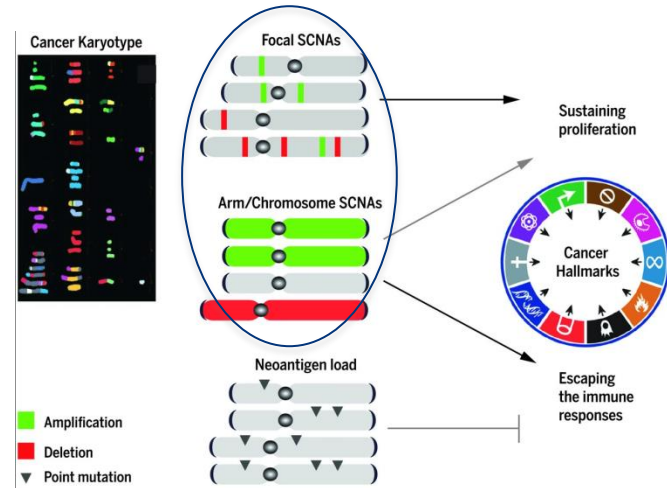
Schumacher et al science 2015 si > 10/MB
néoantigènes; <1/MB peu de chance de
néoantigène

- Prédiction de néo-épitopes ?
- FFPE et artéfact de fixation?
- Quelles tumeurs ?
 - « exposées » tabac-UV.....
 - Défaut de réparation
(MSI/POLE/POLD1...)

Tumor aneuploidy correlates with markers of immune evasion and with reduced response to immunotherapy

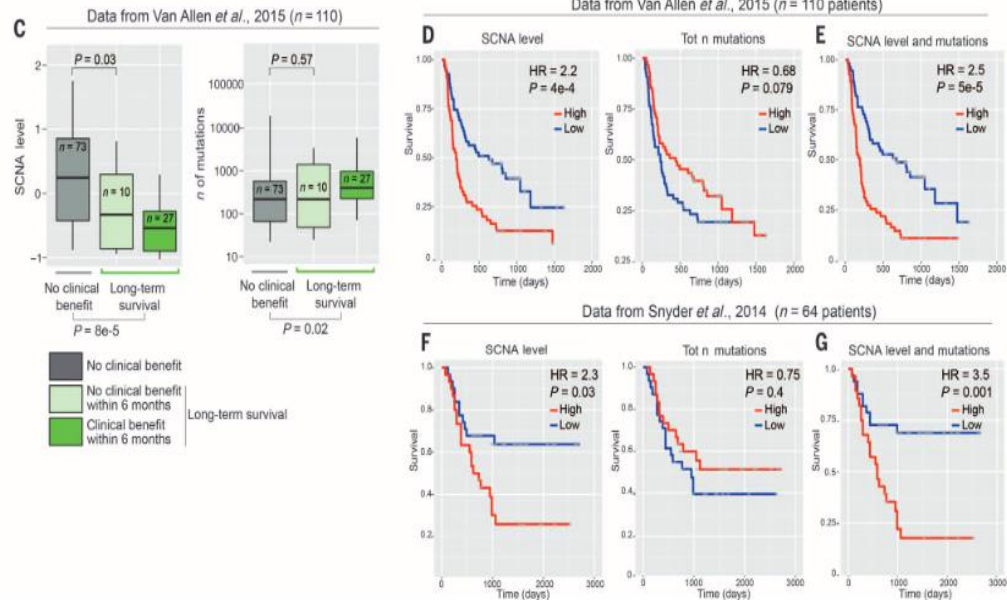
Teresa Davoli,¹ Hajime Uno,² Eric C. Wooten,¹ Stephen J. Elledge^{1*}

Davoli *et al.*, *Science* 355, eaaf9399 (2017) 20 January 2017



ACCORD / DESACCORD
Accord de l'Atelier

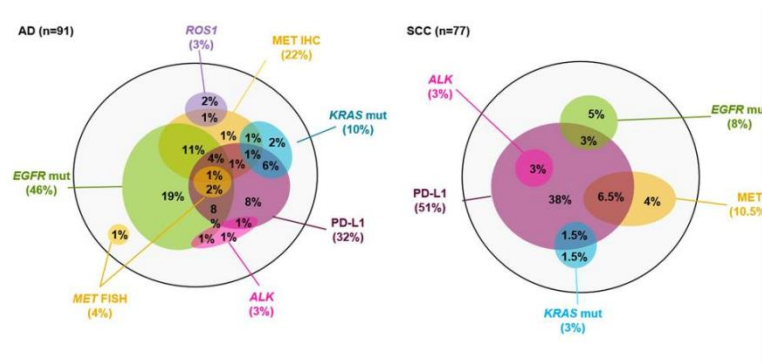
- Bénéfice clinique :**
- Charge mutationnelle élevée
 - Peu de CNV



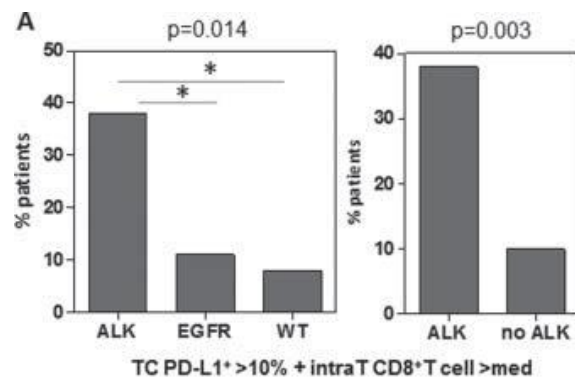
ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

- PD-L1/CD8+/mutations



- CAS ALK



Hélène Roussel, Oncoimmunology 2017

- EGFR

Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR-Mutated Non–Small Cell Lung Cancer—A Meta-Analysis. Lee CK JTO 2016



In *EGFR*-mutant advanced NSCLC, immune checkpoint inhibitors do not improve OS over that with docetaxel.

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Potential Predictive Value of *TP53* and *KRAS* Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma

Zhong-Yi Dong, Wen-Zhao Zhong, Xu-Chao Zhang, et al.

Clin Cancer Res Published OnlineFirst December 30, 2016.

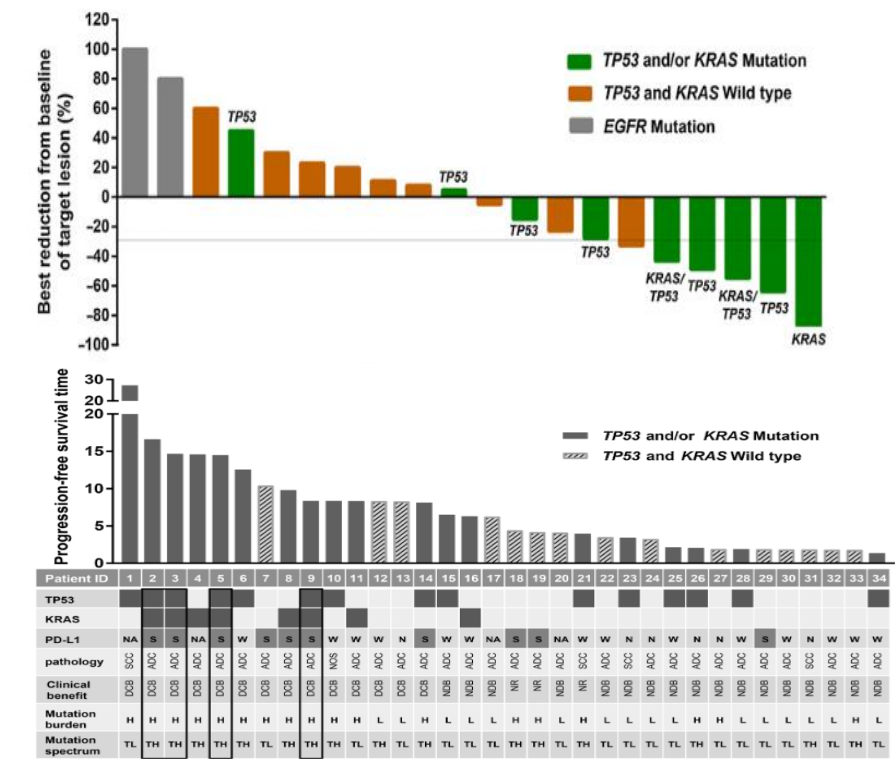


Figure 5.
The correlation between *TP53*/*KRAS* mutation and clinical response to PD-1 blockade. Comparison of nonsynonymous mutation (A) and candidate neoantigen (B) burden in *TP53* or *KRAS* mutation and wild-type group. C, Proportion representation of transversion dominant mutation in the indicated group based on *TP53* or *KRAS* mutation. D and E, Kaplan–Meier survival curves estimates of PFS compared *TP53* or *KRAS* mutation with the wild-type group in patients treated with pembrolizumab. F, Proportional representation of clinical benefit of pembrolizumab in the indicated group based on *TP53* or *KRAS* mutation. G, Individual PFS of 34 NSCLC patients coupled with their mutational status of *TP53* and *KRAS*, pathology, PD-L1 expression, mutation burden, mutation spectrum and clinical benefit to pembrolizumab in each patient. TH, transversion high; TL, transversion low; DCB, durable clinical benefit; NDB, no durable benefit; ADC, adenocarcinoma; mut, mutation; H, High nonsynonymous burden (mutation ≥ 209); L, low nonsynonymous burden (mutation < 209); PD-L1 expression: S, strong ($\geq 50\%$); W, weak (1–49%); N, negative ($< 1\%$); NA, not available; ***, $P < 0.001$; **, $P < 0.05$.

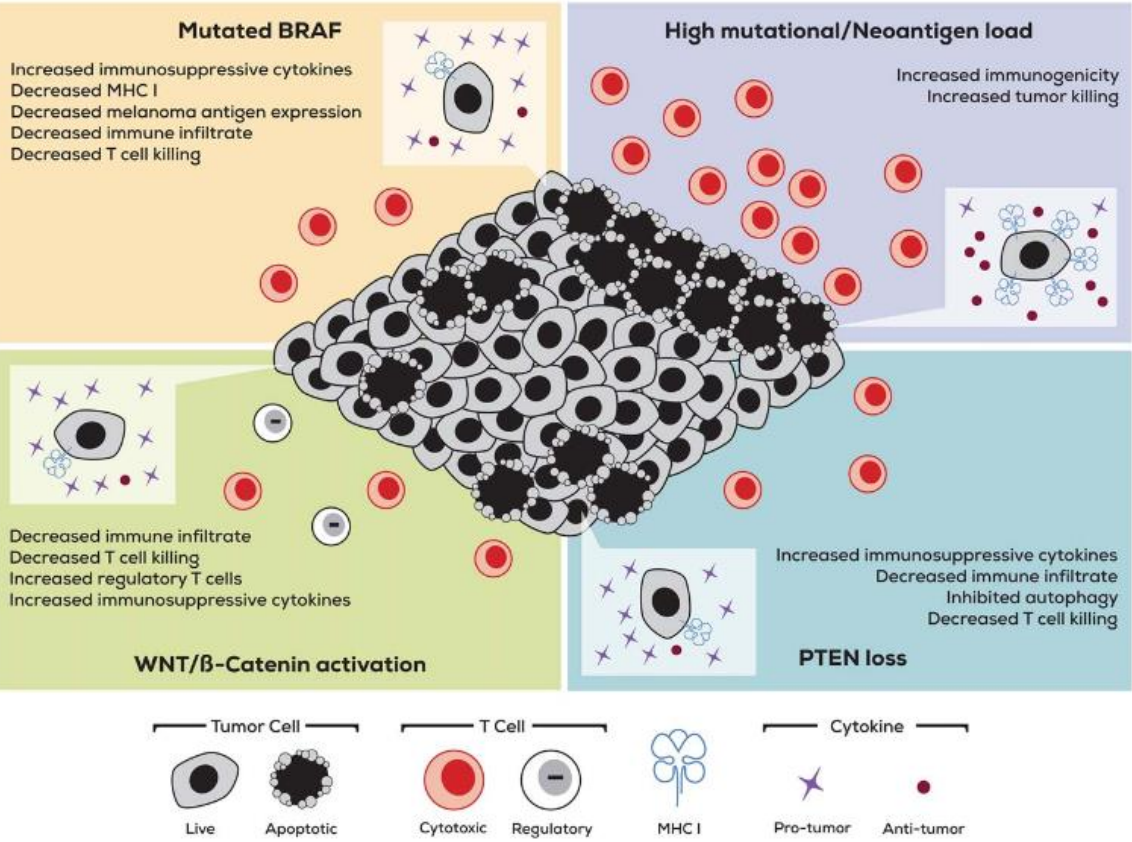
ACCORD / DESACCORD

Accord de l’Atelier

Interaction of Molecular Alterations With Immune Response in Melanoma

Cancer June 1, 2017

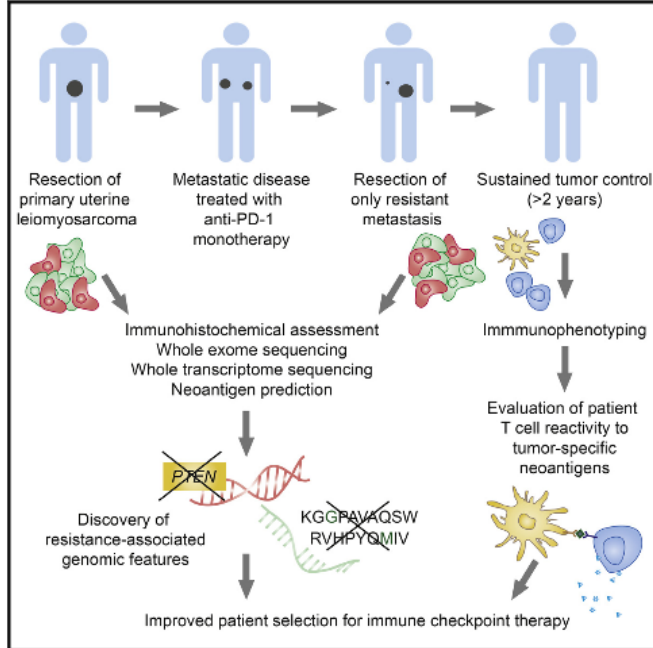
Robert A. Szczepaniak Sloane, BSc ¹; Vancheswaran Gopalakrishnan, BDS, MPH¹; Sangeetha M. Reddy, MD²; Xue Zhang, MS¹; Alexandre Reuben, PhD¹; and Jennifer A. Wargo, MD, MMSc^{1,3}



ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Graphical Abstract



Highlights

- Anti-PD-1 monotherapy can induce complete tumor remission in uterine leiomyosarcoma
- Longitudinal profiling of patient tumors reveals response and resistance mechanisms
- Tumor neoantigens are patient specific and can induce long-term immunoreactivity
- Biallelic *PTEN* loss is associated with resistance to PD-1 blockade in sarcoma

Authors

Suzanne George, Diana Miao,
George D. Demetri, ..., Patrick A. Ott,
Kwok-Kin Wong, Eliezer M. Van Allen

Correspondence

eliezerm_vanallen@dfci.harvard.edu

In Brief

George et al. report an exceptional responder to anti-PD-1 monotherapy in uterine leiomyosarcoma and propose mediators of treatment sensitivity and resistance. Neoantigen-directed immunoreactivity was associated with sensitivity to anti-PD-1 monotherapy, whereas resistance was associated with reduction in neoantigen expression consistent with immune evasion, and biallelic *PTEN* loss was associated with induction of an immunosuppressive microenvironment.

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Monitoring of KRAS-mutated ctDNA to discriminate pseudo-progression from true progression during anti-PD-1 treatment of lung adenocarcinoma.

Guibert N et al. Oncotarget. 2017

Circulating tumour DNA predicts response to anti-PD1 antibodies in metastatic melanoma.

Lee JH et al. Ann Oncol. 2017

Cabel L et al. Circulating tumor DNA changes for early monitoring of anti-PD1 immunotherapy: a proof-of-concept study. Ann Oncol. 2017

Patients in whom ctDNA levels became undetectable at w8 presented a marked and lasting response to therapy. ctDNA detection at w8 was also a significant prognostic factor in terms of progression-free survival (Hazard ratio=10.9 [2.7;44], $p < 0.001$) and overall survival (Hazard ratio=15 95%CI [2.5-94.9], $p = 0.004$).

Restitution

Recommandations pour analyse et
interpréter les marqueurs en
immuno-oncologie

Marius Ilié et Hélène Blons

Avec le soutien du



Groupe Français de
Cytogénomique Oncologique

Marius Ilié : Roche, AstraZeneca, Merck, Boehringer Ingelheim

Hélène Blons : AstraZeneca, Merck, Boehringer Ingelheim, Amgen

Indications

Statut PD-L1 obligatoire – CBNPC

Sans statut PD-L1

Mélanome

HNSCC

Lymphome Hodgkin classique

Urothélial

Cancers MSI-H

Mise en routine

Niveau 1

Expression PD-L1 – IHC

Statut MSI – IHC et séq

Niveau 2

Charge mutationnelle (TMB)

Score composite : CD8, autres

Niveau 3/recherche

Impact des mutations théranostiques?

EGFR, ALK, KRAS...

Impact d' autres mutations?

PTEN TP53

ADNtc?

Indications

- Obligatoire
- 1^{ère} ligne CBNPC IIIB/IV
(épidermoïde et ADK) dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un pourcentage de cellules tumorales (PCT) $\geq 50\%$, sans mutations d'EGFR ou réarrangement d'ALK
- 2^{ème} ligne CBNPC IIIB/IV après échec d'au moins une chimiothérapie antérieure dont les tumeurs expriment PD-L1 avec un PCT $\geq 1\%$

ACCORD

Accord de l'Atelier

Indications

Cancers MSI-H (cf. INCa Acsé)

- Cholangiocarcinome et cancer des voies biliaires
- Estomac et adénocarcinomes de l'œsophage
- Intestin grêle
- Vessie et des voies urinaires
- Endomètre
- Ovaire
- Glioblastome
 - Autres ?
 - ASCO 2017: ADK bronchiques

ACCORD

Accord de l'Atelier cf. INCa Acsé

**Problème technique glioblastome et
cholangiocarcinoma,
technique BM pas sensible
IHC ET BM**

Poumon: pas systématique

Pré-analytique

- Expression PD-L1
- Si ADK bronchique stades IIIB/IV – l'expression PD-L1 doit être recherchée en parallèle du statut EGFR, ALK et ROS1 (+/- MSI)
- Conserver du matériel
- Carcinomes épidermoïdes bronchiques stades IIIB/IV
- Statut MSI (cf. INCa Acsé) : cancers MSI-H

ACCORD

Accord de l'Atelier

Stade IIIB/IV – PD-L1

Pré-analytique

- Lames blanches fraîches ou conservées à 4° C si IHC réalisée > 3 jours
- Biopsie tissulaire (≥ 100 cellules tumorales)
- Pas de preuves suffisantes pour les produits de cytologie

ACCORD

Accord de l'Atelier

Noter dans le CR si < 100 cellules tumorales

Pas de consensus sur cyto

Analytique

- L'expression de PD-L1 doit être déterminée au moyen d'un test validé
- Quel clone ?
- LDT ?
- Rendu des résultats ?
- Contrôles internes/externes ?

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Analytique

- Les kits 22C3 (CE-IVD), 28-8 et SP263 sont concordants pour le marquage des cellules tumorales et probablement interchangeables
- Accessibilité de ces tests en termes de prix ?
- Les tests développés à partir des anticorps concentrés peuvent être utilisés si validés / accrédités
- Obligation de participer aux EEQ (AFAQAP, ESP, etc.)

ACCORD

Accord de l'Atelier

- **LDT à partir des anticorps concentrés peuvent être utilisés si validés**
- **Minimum: Obligation de participer aux EEQ**

Analytique

- Le test (kit/concentré, dilution, automate) doit être indiqué
- Un « témoin » externe positif doit être utilisé
- Le résultat final et le % de cellules tumorales marquées doivent être indiqués
 - PCT < 1%, Absence d'expression de PD-L1
 - PCT 1-49%, Expression intermédiaire de PD-L1
 - PCT ≥ 50%, Forte expression de PD-L1
 - Quid % cellules immunes ?
 - Besoin de formation des pathologistes
 - Lecture en double aveugle

ACCORD

Accord de l'Atelier

Réf Ac

Témoin

Résultat final

Optionnel : % cell immunes

Lecture en double

Analytique

- Cf. INCa Acsé
- Une tumeur sera considérée comme présentant une déficience du système MMR en cas de perte d'expression d'une ou deux protéines MMR révélée par une IHC comprenant 4 anticorps (MLH1, MSH2, MSH6, et PMS2) **ET** en cas d'instabilité microsatellitaire mise en évidence en biologie moléculaire.
- Chaque laboratoire est libre d'utiliser la stratégie de testing qu'il souhaite (IHC ou bio mol en première intention)

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Marqueurs pour colon?

Sensibilité dans d'autres localisations?

Besoin travail validation

Analytique

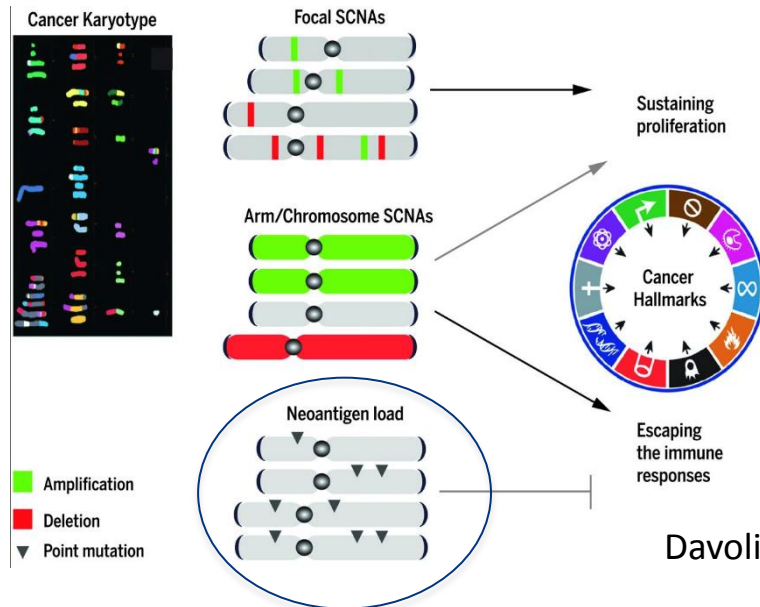
- Témoin externe positif : amygdale
- Témoin externe négatif : adénocarcinome colique avec perte d'expression
- Clones cf. NordiQC
 - MLH1 : ES05, G168-15 et GM011
 - MSH2 : FE11 et G219-1129
 - MSH6 : EP49, EPR3945 et SP93
 - PMS2 : A16-4, MORG4, EP51 et EPR3947

ACCORD

Accord de l'Atelier

Indication

- La charge mutationnelle est un marqueur prédictif de réponse à l'immunothérapie ?
- Mutations non silencieuses > néoantigènes



ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Accord sur marqueurs potentiels mais
besoin d'essais de validation en
prospectif

Aide en RCP

Davoli et al science 2017

Comment ?

- Exome (WES) ?
- Panel de gènes ? Commerciaux ?
- Cut-off ? Range : 0,001-400 mut/Mb

Rizvi et al., Science 2015 (302/148 NSM-median)

Snyder et al., NEJM 2014 (cut-off 100 NSM)

Schumacher et al science 2015 si > 10/MB
néoantigènes; <1/MB peu de chance de
néoantigène

- Prédiction de néo-épitopes ?
- FFPE et artéfact de fixation?
- Quelles tumeurs ?

« exposées » tabac-UV.....

Défaut de réparation

(MSI/POLE/POLD1...)

ACCORD / DESACCORD

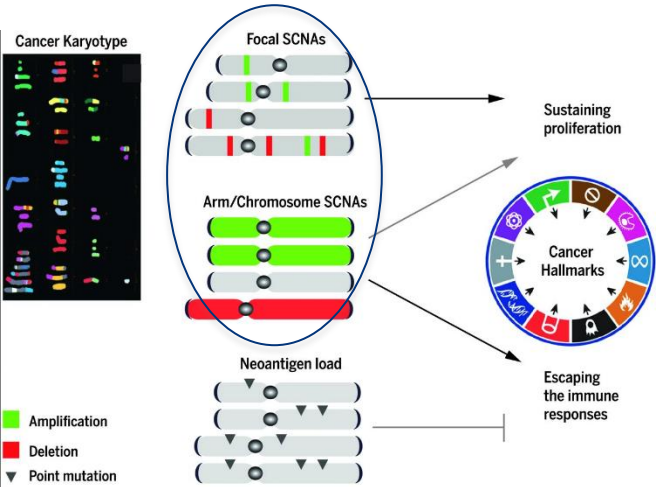
Accord de l'Atelier

Quid Séq gènes plus efficaces que MSI

Tumor aneuploidy correlates with markers of immune evasion and with reduced response to immunotherapy

Teresa Davoli,¹ Hajime Uno,² Eric C. Wooten,¹ Stephen J. Elledge^{1*}

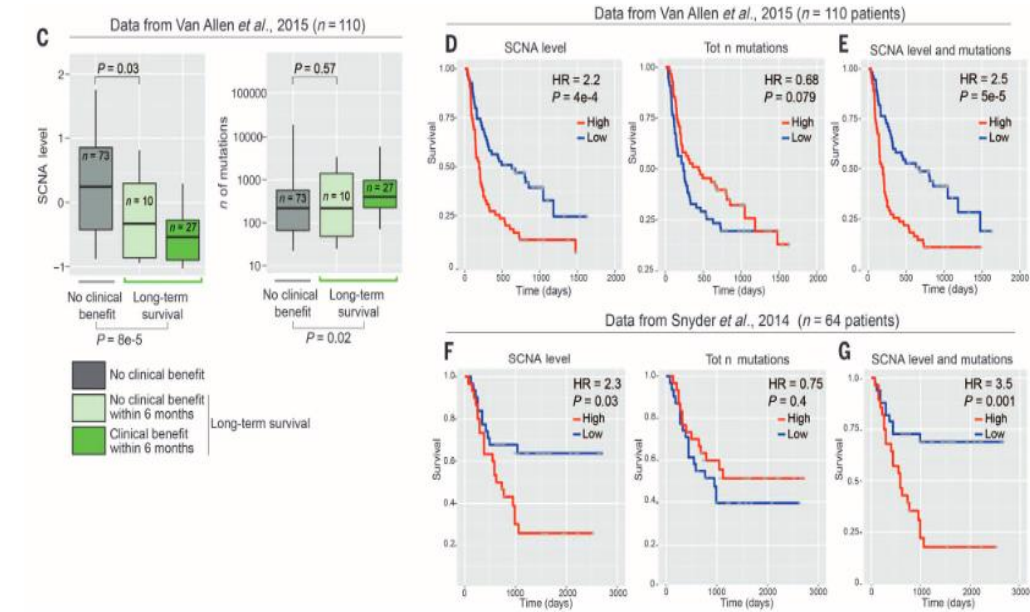
Davoli et al., *Science* 355, eaaf9399 (2017) 20 January 2017



ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

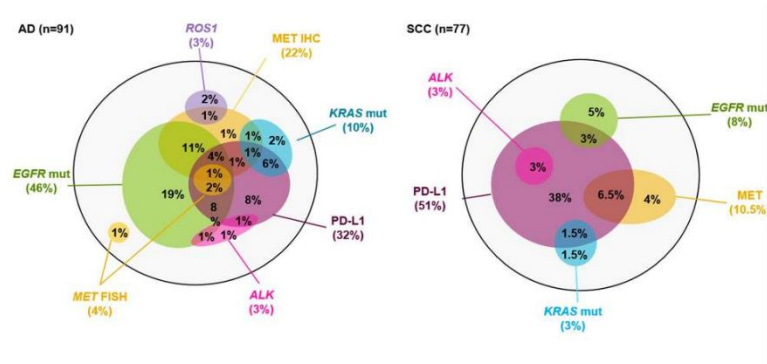
- Bénéfice clinique :
- Charge mutationnelle élevée
 - Peu de CNV



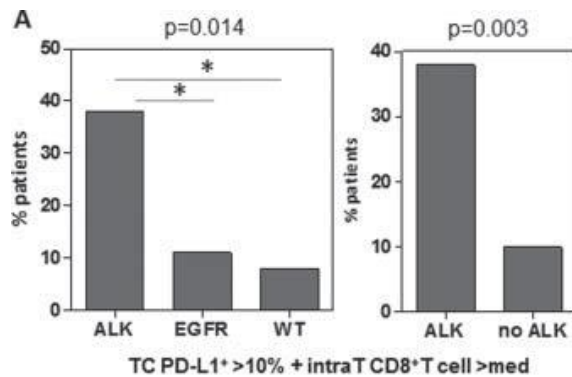
ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

- PD-L1/CD8+/mutations



- CAS ALK



Hélène Roussel, Oncoimmunology 2017

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

- EGFR

Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer—A Meta-Analysis. Lee CK JTO 2016



In *EGFR*-mutant advanced NSCLC, immune checkpoint inhibitors do not improve OS over that with docetaxel.

Clinical Cancer Research

Potential Predictive Value of *TP53* and *KRAS* Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma

Zhong-Yi Dong, Wen-Zhao Zhong, Xu-Chao Zhang, et al.

Clin Cancer Res Published OnlineFirst December 30, 2016.

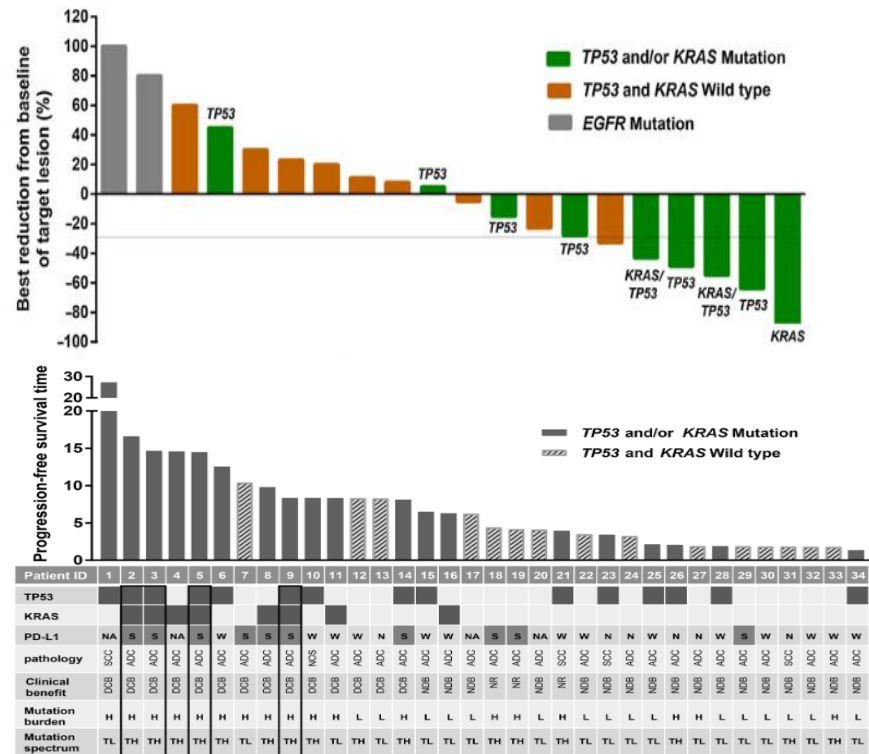


Figure 5. The correlation between *TP53/KRAS* mutation and clinical response to PD-1 blockade. Comparison of nonsynonymous mutation (A) and candidate neointent (B) burden in *TP53* or *KRAS* mutation and wild-type group. C, Proportion representation of transversion dominant mutation in the indicated group based on *TP53* or *KRAS* mutation. D and E, Kaplan–Meier survival curves estimates of PFS compared *TP53* or *KRAS* mutation with the wild-type group in patients treated with pembrolizumab. F, Proportional representation of clinical benefit of pembrolizumab in the indicated group based on *TP53* or *KRAS* mutation. G, Individual patient data (IPD) of pembrolizumab coupled with the immunological status of *TP53* and *KRAS* genotyping. PD-1 expression, mutation burden, mutational spectrum and clinical benefit to pembrolizumab in each patient. TH, transversion high; TL, transversion low; DCB, durable clinical benefit; NDB, no durable benefit; ADC, adenocarcinoma; mut, mutation; H, high nonsynonymous burden (mutation ≥ 209); L, low nonsynonymous burden (mutation < 209); PD-L1 expression: S, strong ($\geq 50\%$); W, weak (1–49%); N, negative ($<1\%$); NA, not available; ***, $P < 0.001$; **, $P < 0.05$.

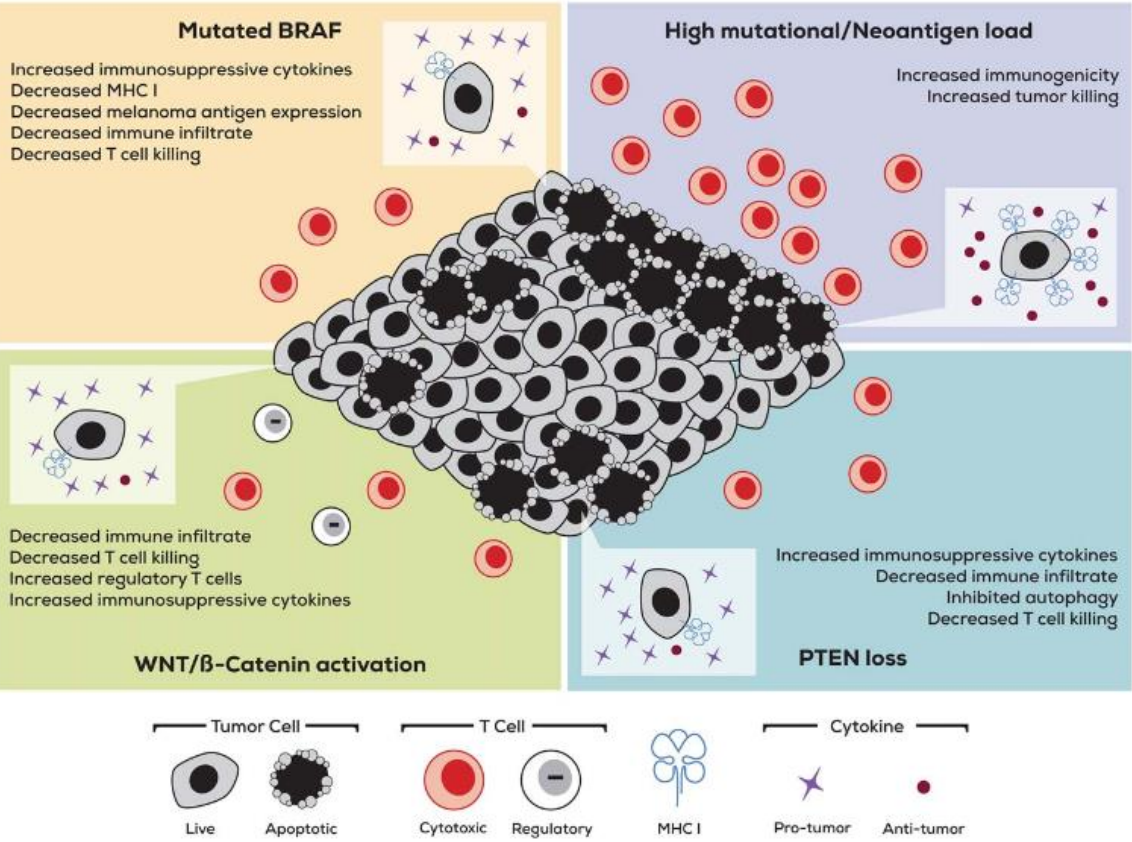
ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Interaction of Molecular Alterations With Immune Response in Melanoma

Cancer June 1, 2017

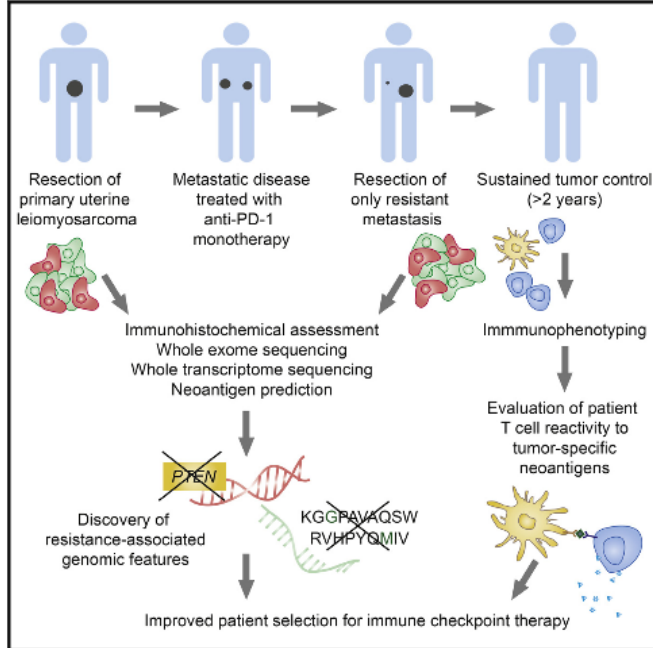
Robert A. Szczepaniak Sloane, BSc ¹; Vancheswaran Gopalakrishnan, BDS, MPH¹; Sangeetha M. Reddy, MD²; Xue Zhang, MS¹; Alexandre Reuben, PhD¹; and Jennifer A. Wargo, MD, MMSc^{1,3}



ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Graphical Abstract



Highlights

- Anti-PD-1 monotherapy can induce complete tumor remission in uterine leiomyosarcoma
- Longitudinal profiling of patient tumors reveals response and resistance mechanisms
- Tumor neoantigens are patient specific and can induce long-term immunoreactivity
- Biallelic *PTEN* loss is associated with resistance to PD-1 blockade in sarcoma

Authors

Suzanne George, Diana Miao,
George D. Demetri, ..., Patrick A. Ott,
Kwok-Kin Wong, Eliezer M. Van Allen

Correspondence

eliezerm_vanallen@dfci.harvard.edu

In Brief

George et al. report an exceptional responder to anti-PD-1 monotherapy in uterine leiomyosarcoma and propose mediators of treatment sensitivity and resistance. Neoantigen-directed immunoreactivity was associated with sensitivity to anti-PD-1 monotherapy, whereas resistance was associated with reduction in neoantigen expression consistent with immune evasion, and biallelic *PTEN* loss was associated with induction of an immunosuppressive microenvironment.

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

ACCORD / DESACCORD

Accord de l'Atelier

Monitoring of KRAS-mutated ctDNA to discriminate pseudo-progression from true progression during anti-PD-1 treatment of lung adenocarcinoma.

Guibert N et al. Oncotarget. 2017

Circulating tumour DNA predicts response to anti-PD1 antibodies in metastatic melanoma.

Lee JH et al. Ann Oncol. 2017

Cabel L et al. Circulating tumor DNA changes for early monitoring of anti-PD1 immunotherapy: a proof-of-concept study. Ann Oncol. 2017

Patients in whom ctDNA levels became undetectable at w8 presented a marked and lasting response to therapy. ctDNA detection at w8 was also a significant prognostic factor in terms of progression-free survival (Hazard ratio=10.9 [2.7;44], $p < 0.001$) and overall survival (Hazard ratio=15 95%CI [2.5-94.9], $p = 0.004$).