

2018-2019

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en ONCOLOGIE MEDICALE

Rôle potentiel de l'immunothérapie par inhibiteurs de checkpoint dans les carcinomes rénaux papillaires

DE VRIES-BRILLAND Manon

Née le 17 mai 1989, à Courcouronnes (91)

Sous la direction de Madame ALBIGES Laurence

Membres du jury

Monsieur le Professeur RAVAUD Alain	Président
Madame le Docteur ALBIGES Laurence	Directrice
Monsieur le Professeur CAMPONE Mario	Membre
Madame le Professeur RIOUX-LECLERCQ Nathalie	Membre
Monsieur le Docteur BOUGHALEM Elouen	Membre

Soutenue publiquement le :
4 juillet 2019



**FACULTÉ
DE SANTÉ**
UNIVERSITÉ D'ANGERS

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée Manon DE VRIES-BRILLAND
déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiante le **19/06/2019**

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr
Frédéric Lagarce

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie	Médecine
ANNWEILER Cédric	Gériatrie et biologie du vieillessement	Médecine
ASFAR Pierre	Réanimation	Médecine
AUBE Christophe	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
AUGUSTO Jean-François	Néphrologie	Médecine
AZZOUZI Abdel Rahmène	Urologie	Médecine
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BEYDON Laurent	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
BIGOT Pierre	Urologie	Médecine
BONNEAU Dominique	Génétique	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie	Médecine
BOUVARD Béatrice	Rhumatologie	Médecine
BOURSIER Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
BRIET Marie	Pharmacologie	Médecine
CAILLIEZ Eric	Médecine générale	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CAROLI-BOSC François-xavier	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CHAPPARD Daniel	Cytologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
CONNAN Laurent	Médecine générale	Médecine
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
COUTURIER Olivier	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DE BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine Générale	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
DINOMAS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUBEE Vincent	Maladies Infectieuses et Tropicales	Médecine

DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FANELLO Serge	Épidémiologie ; économie de la santé et prévention	Médecine
FAURE Sébastien	Pharmacologie physiologie	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie	Médecine
FURBER Alain	Cardiologie	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie	Médecine
GARNIER François	Médecine générale	Médecine
GASCOIN Géraldine	Pédiatrie	Médecine
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie
HAMY Antoine	Chirurgie générale	Médecine
HUNAUULT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion	Médecine
IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion	Médecine
JEANNIN Pascale	Immunologie	Médecine
KEMPF Marie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie	Médecine
LAGARCE Frédéric	Biopharmacie	Pharmacie
LARCHER Gérald	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
LEGENDRE Guillaume	Gynécologie-obstétrique	Médecine
LEGRAND Erick	Rhumatologie	Médecine
LERMITE Emilie	Chirurgie générale	Médecine
LEROLLE Nicolas	Réanimation	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
MARCHAIS Véronique	Bactériologie-virologie	Pharmacie
MARTIN Ludovic	Dermato-vénéréologie	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
MERCIER Philippe	Anatomie	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et Santé au Travail	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et Biologie Moléculaire	Médecine
PRUNIER Fabrice	Cardiologie	Médecine
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine

RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
RICHOMME Pascal	Pharmacognosie	Pharmacie
RODIEN Patrice	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROY Pierre-Marie	Thérapeutique	Médecine
SAULNIER Patrick	Biophysique et biostatistique	Pharmacie
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SUBRA Jean-François	Néphrologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	Pédiatrie	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANGOULVANT Cécile	Médecine Générale	Médecine
ANNAIX Véronique	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
BAGLIN Isabelle	Chimie thérapeutique	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et biostatistique	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BELLANGER William	Médecine générale	Médecine
BELONCLE François	Réanimation	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie	Pharmacie
BIERE Loïc	Cardiologie	Médecine
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CASSEREAU Julien	Neurologie	Médecine
CHEVAILLER Alain	Immunologie	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie / physiologie	Pharmacie
COLIN Estelle	Génétique	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie

DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FLEURY Maxime	Immunologie	Pharmacie
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
HAMEL Jean-François	Biostatistiques, informatique médicale	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
LACOEUILLE Franck	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
LANDREAU Anne	Botanique/ Mycologie	Pharmacie
LEBDAL Souhil	Urologie	Médecine
LEGEAY Samuel	Pharmacocinétique	Pharmacie
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Pharmacognosie	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
MABILLEAU Guillaume	Histologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAILHORIE Hélène	Bactériologie-virologie	Médecine
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine
PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
PY Thibaut	Médecine Générale	Médecine
RINEAU Emmanuel	Anesthésiologie réanimation	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistiques	Pharmacie
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SAVARY Camille	Pharmacologie-Toxicologie	Pharmacie
SCHMITT Françoise	Chirurgie infantile	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	Pharmacie Clinique et Education Thérapeutique	Pharmacie
TANGUY-SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TESSIER-CAZENEUVE Christine	Médecine Générale	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	Pneumologie	Médecine

AUTRES ENSEIGNANTS

AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BARBEROUSSE Michel	Informatique	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
CHIKH Yamina	Économie-Gestion	Médecine
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine

PAST

CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
LAFFILHE Jean-Louis	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Pharmacie clinique	Pharmacie

ATER

FOUDI Nabil	Physiologie	Pharmacie
KILANI Jaafar	Biotechnologie	Pharmacie
WAKIM Jamal	Biochimie et chimie biomoléculaire	Médecine

AHU

BRIS Céline	Biochimie et biologie moléculaire	Pharmacie
CHAPPE Marion	Pharmacotechnie	Pharmacie
LEBRETON Vincent	Pharmacotechnie	Pharmacie

CONTRACTUEL

VIAULT Guillaume	Chimie organique	Pharmacie
------------------	------------------	-----------

REMERCIEMENTS

A ma directrice de thèse. Madame le Docteur Laurence ALBIGES, sans qui ce projet, me tenant tant à cœur, n'aurait pas pu se réaliser. Je ne pourrai jamais assez te remercier pour la chance que tu m'as offerte de travailler à tes côtés. Merci pour ton investissement, ton expertise et ta bienveillance. Merci pour ton temps si précieux que tu m'as consacré. Merci de m'avoir emmenée toujours plus loin, jusque de l'autre côté de l'Atlantique. Et surtout merci de m'avoir fait confiance.

A mon président du Jury. Monsieur le Professeur Alain RAVAUD. Merci de m'avoir fait l'honneur de présider ce moment si important pour moi. Merci de m'avoir si bien accueillie dans votre service durant mon cursus. J'ai eu le privilège de pouvoir apprendre à vos côtés et je vous en serai toujours reconnaissante.

A mes membres du Jury.

A Madame le Professeur RIOUX-LECLERCQ. Vous me faites l'honneur de juger ce travail et je vous en remercie. Merci pour votre réactivité et votre disponibilité.

A Monsieur le Professeur Mario CAMPONE. Merci de m'avoir accompagnée dès mon début d'internat en tant que chef universitaire. Merci de m'avoir soutenue dans tous mes projets durant mon cursus. Merci pour votre confiance.

A Monsieur le Docteur Elouen BOUGHALEM. Merci d'avoir cru en moi dès ce 1^{er} semestre, avec cette fameuse étude rétrospective « thrombose et cancer du testicule » qui m'a donné le goût de poursuivre dans cette voie. Merci pour ton écoute et ta réassurance. Ta « cool-attitude » a été importante pour relativiser ma « stress-attitude » à de nombreuses reprises. Et enfin, merci de m'avoir permis de rencontrer Laurence et de pouvoir ainsi réaliser ce projet.

REMERCIEMENTS

A mes collaborateurs de ce travail de thèse,

A Madame le Docteur Valérie SEEGERS. Comment te remercier pour tout ton investissement, ta motivation, ta confiance... Merci d'avoir pu réaliser et re réaliser toutes nos statistiques, merci pour toutes tes discussions, tes réflexions, tes corrections. Merci pour ta disponibilité « au pied levé » à chaque fois. Merci pour tes compétences que tu m'as partagées. Merci pour ton aide si précieuse dans ces travaux.

A Monsieur le Professeur Bernard ESCUDIER. Merci de m'avoir fait l'honneur de vous être intéressé à mon travail et d'y avoir consacré votre temps précieux. Merci pour vos conseils si avisés, vos encouragements et votre bienveillance.

A tous les autres auteurs de l'étude clinique, aux Docteurs Benoit BEUSELINCK, Constance THIBault, Christine CHEVREAU, Sylvain LADOIRE, Philippe BARTHELEMY, Antoine THIERY-VUILLEMIN, Sylvie NEGRIER, Gwenaëlle GRAVIS, Delphine BORCHIELLINI, Carolina SALDANA, Lionel GEOFFROIS, Olivier HUILLARD, qui ont accepté d'y participer en incluant leurs patients. Merci pour leur réactivité et disponibilité. Merci pour leur relecture si importante.

A Monsieur le Professeur Alain MOREL. Merci d'avoir accepté que je puisse réaliser mon projet de recherche dans votre service et de m'en avoir donné les moyens. Merci pour vos conseils bienveillants.

A Madame Elena SPIRINA. Merci au destin d'avoir permis cette rencontre si enrichissante. Merci pour tout ton investissement dans mon projet, merci pour ton expertise, merci pour nos échanges constructifs et motivants.

A Monsieur Jonathan DAUVE. Merci d'avoir accepté de partager ton bureau pendant ces 6 mois. Merci pour ton aide à l'initiation de ce projet de recherche.

A Monsieur le Docteur Christophe PASSOT. Merci pour ton écoute et ta disponibilité.

Aux Messieurs Jean-Yves MARION et Pierre CHAUVET, du laboratoire LARIS, pour leur aide et expertise en bio-informatique.

A mes « mentors » en uro-oncologie,

A Madame le Docteur Marine GROSS-GOUPIL. Merci de m'avoir aussi bien accueillie et pris sous ton aile pendant ces 6 mois pendant lesquels j'ai eu tellement de chance d'être à tes côtés pour apprendre cette spécialité qui me passionne. Merci de m'avoir fait partager ton expertise, ton expérience, ton parcours si admirable.

A Madame le Docteur Sophie ABADIE. Tu es celle avec qui tout a débuté en cette après-midi de consultation dans les sous-sols de l'ancien ICO lors de mon stage en D4. Tu m'as confirmé mon attirance pour cette si belle spécialité. Merci pour le partage de tes compétences et ta rigueur.

A Monsieur le Docteur Rémy DELVA. Comment vous exprimez tout mon profond respect et admiration envers votre carrière. J'espère que votre expertise et votre humilité me guideront encore longtemps. Je vous remercie beaucoup pour votre disponibilité et votre confiance.

A mes chefs et équipes,

A Monsieur le Docteur Olivier CAPITAIN. Merci d'avoir été si présent dès le début. Merci de m'avoir permis de découvrir cette si belle spécialité dès la D1. Merci pour tes compétences pédagogiques hors pair. Merci pour tout ton investissement et ta bienveillance.

A tous les oncologues médicaux de l'ICO : Julie, Paule, Laureline, Véronique, Anne, Patrick, Frédéric. Merci de m'avoir tant appris. Merci de vous rendre disponible dès que besoin. Je tiens particulièrement à remercier le Docteur Julie VANBOCKSTAEL pour son soutien sans faille jusqu'aux derniers jours, me permettant de terminer cette thèse.

Merci également aux Docteurs Delphine CORNUAULT-FOUBERT et Jean-Marie COMMER, mes mentors de la première heure. J'ai eu beaucoup de chance de commencer mon internat près de vous. Vous m'avez beaucoup appris, la base, la clinique. Merci pour votre compétence, votre bienveillance, votre confiance.

Merci à tous les autres chefs de l'ICO, aux Docteurs Hélène SCHMETS, Clarisse MERLET, Félix LE BORGNE et Baptiste SAUTEREY pour votre aide précieuse, aux anesthésistes toujours si réactifs, aux chirurgiens. Merci également à toute l'équipe de radiothérapie auprès de laquelle j'ai pu découvrir et m'initier à ce côté si technique pour moi de l'oncologie.

Merci à toute l'équipe paramédicale de l'ICO : vous êtes des IDE, aides-soignants, ARC, secrétaires avec qui c'est un réel plaisir de travailler chaque jour. Merci pour toutes vos qualités humaines. Un grand merci tout particulier à l'U3 et son équipe, Anaïs et les filles, pour leur soutien ultime.

REMERCIEMENTS

Merci à toute l'équipe d'oncologie médicale du Mans : aux Docteurs Oana COJOCARASU et Mustapha ATLASSI pour leur simplicité et leur rigueur. Merci à toute l'équipe paramédicale si sympathique.

Merci à toute l'équipe d'hématologie du CHU d'Angers, et notamment à Monsieur le Professeur Norbert IFRAH pour vos conseils et votre soutien, aux Docteurs Aline SCHMIDT, Mathilde HUNAULT, Marie-Pierre MOLES, Aline CLAVERT, Sylvain THEPOT, Corentin ORVAIN ; ainsi que toute l'équipe paramédicale pour leur soutien et leurs compétences.

Merci à toute l'équipe d'oncologie médicale de Cholet. A Monsieur le Docteur Alain ZANNETTI, pour qui j'ai une profonde admiration et avec qui j'ai beaucoup appris. Merci pour votre confiance. Au Docteur Anaise BLOUET, mais surtout ancienne co-interne et amie. Merci d'avoir partagé ce semestre avec moi (et ces covoiturages). Merci à toute l'équipe paramédicale, si extraordinaire avec qui j'ai pu tisser des vraies relations si enrichissantes, grâce à des qualités humaines admirables (Oui je parle notamment de toi ma petite Virginie : merci de cette si belle rencontre et de ton soutien).

Merci à toute l'équipe d'oncologie médicale de Bordeaux, et notamment aux Docteurs Baptiste SIONNEAU et Fanny LAFAYE lors de mes passages dans le service d'hospitalisation ; ainsi qu'à toute l'équipe paramédicale si sympathique et disponible.

Merci à toute l'équipe québécoise de mon master 2. Merci tout d'abord à Monsieur le Professeur Claude PERREAULT d'avoir accepté ma candidature, de m'avoir fait découvrir la recherche, de m'avoir permise de m'initier à la bio-informatique pendant 9 mois. Merci également à Assya, Leslie, Céline, Krystel, Charles pour avoir partagé cette si belle aventure qu'a été pour moi, pour nous, cette année canadienne.

Merci aux Docteurs Alice ROBBE et Philippe CODRON, pour ce mois de FFI en neurologie. Merci de m'avoir guidé dans ces premiers pas en tant qu'interne.

REMERCIEMENTS

A mes co-internes et amis,

A mes co-internes d'oncologie d'Angers : Samar, Sena, Pierre G, Pierre T, Guillaume, Thibaut, Marie, Ana, Sylvère, Thomas, Camille, Clara, Cassandre, Youssef, Marie, Cédric : merci pour tous ces bons moments, notre entraide, nos fameuses soirées AJOA, professionnelles et extra professionnelles ; un réel plaisir de travailler avec vous.

A mes co-internes d'oncologie de Bordeaux : Mathilde, Maxime, Etienne : Merci pour ce semestre partagé ensemble et votre soutien.

A mes co-internes d'ailleurs, tous aussi importants durant mon cursus : Xavier, PJ, François, Thomas, Margot, Alix, Aurélien, Kevin, Rodolphe, Yannick, Jim, Leslie : merci pour ces semestres partagés ensemble.

A mes co-internes n+1 et amis : Au Docteur SIMMET alias mon Vivi (et Isa), merci pour ta « cool-attitude » et ton côté rêveur qui font du bien, merci pour ton aide et tes conseils. Au Docteur NOBLECOURT (je n'y arrive pas...), à ma poule d'oncologie (car tu le seras toujours pour moi) merci pour ta confiance, ton écoute, ton amitié si sincère. A mes co-internes de promo et amies, Ma Flo et Marion : J'ai été « chanceuse » de partager cette promo avec vous. Merci pour votre confiance, votre soutien et cette belle amitié.

A mes co-internes n-1 et amis : A ma Delphine, ma Dédé, ma jumelle du 17 mai. Une vraie rencontre, une relation de confiance, de confidences, d'amitié. Merci de ton naturel, de ton énergie, de ta disponibilité, de nos longues heures au téléphone... A mon Kubi, merci d'être toujours motivé, plein de projets. Merci à tous les deux pour votre énorme soutien.

A mes amis de l'internat : A ma Mimie et son Raf, Carole, Marine, Blandine : de très belles rencontres à cet internat du Mans. Merci pour tous ces bons moments partagés, toutes ces discussions toujours très enrichissantes. Merci pour votre confiance et votre soutien.

A mes amis de l'externat : A ma Annette (et Romain), Orianne et Thomas, Emeline : Merci pour toutes ces années d'études partagées ensemble, du banc de la fac au CHU ; mais aussi et surtout pour tout le reste. Merci pour ces précieuses amitiés.

A mes amis d'enfance : Mon Willou (et Amélie), Marine, July (et Arnaud) : Merci pour ces longues années d'amitié sans faille, où nous avons pu toujours compter les uns sur les autres.

REMERCIEMENTS

A ma Mylène. Que j'ai eue de la chance de te rencontrer lors de ce fameux stage de pré-rentrée de P1. Nous avons passé qu'une année ensemble, mais quelle année... Je te remercie beaucoup pour cette si belle personne que tu es, toujours de bons conseils et pleine de sagesse. Merci pour cette belle amitié.

A Elo, ma poule. Il y a eu l'externat, nos soirées sur ton canapé, les premiers stages en clinique, les révisions, les exams. Rien ne pouvait nous arrêter. Et puis il y a eu l'internat où tu m'as manqué mais tu n'étais jamais très loin. Merci pour ce soutien qui m'a souvent été indispensable. Merci pour cette amitié si importante, merci d'être cette belle personne toujours pleine de courage et d'énergie, qui me donne à chaque fois de belles leçons de vie.

A Cindy, ma (1^{ère}) poule. Ma meilleure amie, cette amie d'enfance avec qui on a tout partagé, de l'école primaire au lycée, nos premières soirées pyjamas, nos premières booms, nos premières sorties à Paris, nos premières réussites, et difficultés. Merci ma poule pour tout ton soutien. Merci pour cette amitié inébranlable dont je suis si fière.

A ma famille,

A ma belle-famille, désormais devenue ma famille. Merci de m'avoir « adopté » comme vous l'avez fait.

A mes grands-parents. Merci pour vos conseils, votre sagesse, votre fierté et votre soutien. Sans oublier le : « quand on veut, on peut » qui m'a mené loin.

A mes parents, c'est auprès de vous que tout a commencé. Je ne saurais comment vous remercier... Merci pour tout ce que vous m'avez transmis, merci pour m'avoir donné les clés pour réussir. Merci pour votre amour, votre écoute et votre soutien indéfectible.

A mes sœurs, Valentine et Léa. Merci pour votre soutien, pour tous ces moments qui n'ont pas été faciles, ces révisions, ces discussions de « médecine »... Vous avez bien grandi, êtes devenues de belles personnes, avec de beaux projets, déterminées et ambitieuses, mais vous serez toujours mes petites sœurs dont je suis si fière.

A Benoit, et à notre famille à venir. Merci pour tout ton soutien chaque jour, sans faille, depuis le début. Merci pour ta patience et ton écoute si importantes pour moi. Merci pour tous les projets que tu m'offres sans cesse. Merci pour ton amour. Enfin, merci de rendre ma vie chaque jour toujours plus belle.

LISTE DES ABREVIATIONS

ccRCC	Carcinome Rénal à Cellules Claires
CIMP	CpG Island Methylator Phenotype
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA	Cellules Présentatrices d'Antigènes
CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte-Associated protein 4
EAU	European Association of Urology
ESMO	European Society for Medical Oncology
FH	Fumarate Hydratase
GZMA	Granzyme A
HLRCC	Hereditary Léiomyomatose RCC
HPRCC	Hereditary Papillary RCC
HR	Hazard Ratio
IC	Intervalle de Confiance
IMDC	International Metastatic RCC Database Consortium
ISUP	Société Internationale de Pathologie Urologique
LB	Lymphocytes B
LT	Lymphocytes T
MSKCC	Memorial Sloan Kettering Cancer Center
mTOR	Mechanistic Target Of Rapamycin
nccRCC	Carcinome Rénal Non à Cellules Claires
ORR	Taux de Réponse Objective
OS	Survie Globale
PD-1	Programmed cell Death 1
PD-L1	Programmed Death-Ligand 1
PFS	Survie Sans Progression
pRCC	Cancer du Rein Papillaire
PRF1	Perforine 1
PS	Performance Status
RCC	Cancer du Rein/Carcinome Rénal
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TCR	T Cell Receptor
TKI	Inhibiteurs de Tyrosine-Kinases
TTF	Time-to-Treatment Failure (Temps jusqu'à échec du traitement)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

Plan

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION

1. Rationnel clinique

- 1.1. Le cancer du rein : place du carcinome papillaire
- 1.2. Anatomopathologie des carcinomes rénaux papillaires
- 1.3. Pronostic des carcinomes rénaux papillaires
- 1.4. Biologie des carcinomes rénaux papillaires
- 1.5. Thérapies ciblées et nccRCC
- 1.6. Thérapies ciblées et PRCC
- 1.7. Immunothérapie et nccRCC
- 1.8. Immunothérapie et pRCC

2. Rationnel biologique

- 2.1. Infiltration immunitaire : généralités dans le cancer
- 2.2. Principes de l'immunothérapie par les inhibiteurs de checkpoint
- 2.3. Infiltration immunitaire et RCC

3. Hypothèse de travail et objectifs

PARTIE 1

PARTIE 2

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

1. Rationnel clinique

1.1. Le cancer du rein : place du carcinome papillaire

Le carcinome rénal (RCC) représente 3% de tous les cancers (1). Cela se traduit par 14000 nouveaux cas par an en France dont 4500 décès par an (2). La maladie métastatique est retrouvée chez environ 15% des sujets au moment du diagnostic (3). Près de 75% des patients atteints de RCC présentent une histologie de carcinome rénal à cellules claires (ccRCC) et environ 25% une histologie de carcinome rénal non à cellules claires (nccRCC) (4).

Les nccRCC correspondent à un groupe hétérogène de tumeurs avec des caractérisations histologiques, moléculaires et pronostiques distinctes. Nous distinguons 13 sous-types de nccRCC différents selon la nouvelle classification OMS 2016 (5). Le carcinome rénal papillaire (pRCC) est le plus fréquent des cancers du rein non à cellules claires (6). Il représente 10 à 15% des cancers du rein (7). Les RCC chromophobes représentent 5 à 7% des RCC. Les autres sous-types, tels que les RCC avec translocation Xp11/TFE3, les carcinomes médullaires et les carcinomes des canaux collecteurs (ou tumeurs de Bellini) sont encore plus rares. Les caractéristiques sarcomatoïdes sont courantes et peuvent être trouvées indépendamment du sous-type histologique (8).

1.2. Anatomopathologie des carcinomes rénaux papillaires

Le carcinome rénal papillaire (pRCC), entité la plus fréquente des nccRCC, apparaît également lui-même hétérogène ; en se distinguant en plusieurs sous types histologiques : les types 1, les types 2 et les tumeurs papillaires non classables (9). Les carcinomes papillaires de type 1 sont les plus fréquents, souvent multiples et bilatéraux. Macroscopiquement, ils

apparaissent friables, solides, jaune, marron. Ils sont constitués de cellules peu atypiques avec une architecture tubulo-papillaire et une seule assise de petites cellules basophiles. Les carcinomes papillaires de type 2 sont plus rares. Ils peuvent être tout aussi friables mais sont souvent mal limités avec de la nécrose importante. Leur architecture papillaire est associée à plusieurs assises de cellules éosinophiles de grandes tailles, avec des noyaux globuleux nucléolés et peu de macrophages (6,10,11) (**Tableau 1**). Les tumeurs papillaires non classables sont des tumeurs qui possèdent des caractéristiques mixtes, à la fois typiques des carcinomes papillaires de type 1 et de type 2, que ce soit au sein d'une même cellule, à l'échelle de la tumeur, ou à l'échelle moléculaire, les rendant ainsi difficiles à classer (12).

1.3. Pronostic des carcinomes rénaux papillaires

Les facteurs pronostiques validés par les consensus de la Société Internationale de Pathologie Urologique (ISUP) (13,14) et la nouvelle classification OMS 2016 (5) se composent du sous-type histologique de la tumeur, du système de classement nucléolaire ISUP, d'une différenciation sarcomatoïde et / ou rhabdoïde définissant une tumeur de grade 4, la nécrose et le stade pTNM (15).

Au stade localisé, les pRCC apparaissent de meilleur pronostic que les ccRCC, même si plusieurs grandes études ont rapporté des résultats contradictoires, avec une survie sans métastases à 5 ans entre 87 et 95% versus 69 à 86% pour les ccRCC (16-18).

Au stade métastatique, le pronostic des nccRCC, comme des ccRCC, est stratifié selon 3 groupes : bon, intermédiaire et mauvais pronostic (19) selon le score pronostique MSKCC (Memorial Sloan Kettering Cancer Center) (20), et plus récemment du score IMDC (International Metastatic RCC Database Consortium) (21). Ce dernier prend en compte le performance status (PS) avec un indice de Karnofsky < 80%, un temps entre le diagnostic et le traitement < 1 an, un taux d'hémoglobine inférieur à la normale, et des taux de calcium

corrigé, de plaquettes et de neutrophiles supérieurs à la normale. Les patients atteints d'un nccRCC ont des taux de réponse significativement plus bas et une médiane de survie sans progression et survie globale plus faibles que les patients atteints d'un ccRCC (22,23). Même si la plupart des études incluant des pRCC ne distinguent pas les sous types histologiques ou sont discordantes, les tumeurs papillaires de type 1 présentent habituellement une évolution lente, alors que les tumeurs papillaires de type 2 sont plus agressives (10,24–26) (**Tableau 1**). L'étude de *Connor Wells et al*, représentant la plus importante cohorte de pRCC métastatiques traités en 1ère ligne toutes thérapies ciblées confondues, met bien en évidence une survie globale (OS) et une survie sans progression (PFS) moins bonnes dans les pRCC par rapport aux ccRCC (13,8 mois vs 21,9 mois pour l'OS et 4,7 vs 7,3 mois pour la PFS respectivement). Cependant il n'est pas retrouvé de différence significative en termes d'OS et de PFS entre les pRCC de type 1 et de type 2 au stade métastatique (26).

1.4. Biologie des carcinomes rénaux papillaires

Les différences entre pRCC de type 1 et de type 2, tant sur le plan anatomopathologique que pronostique, amènent à s'intéresser à la caractérisation biologique de ces sous-types histologiques. Bien que la plupart des nccRCC soient des tumeurs sporadiques, environ 5% d'entre elles pourraient provenir de prédispositions génétiques (27). Historiquement, une mutation germinale du gène c-MET menant à son activation constitutive a été décrite dans des familles présentant un syndrome HPRCC (hereditary papillary RCC), caractérisé par le développement de multiples carcinomes papillaires de type 1 (28). Même lorsqu'elles sont sporadiques, 10% à 21% des tumeurs papillaires de type 1 présentent des mutations c-MET somatiques (29). De même, des formes agressives de carcinomes papillaires de type 2 peuvent s'inscrire dans un syndrome de prédisposition héréditaire, la léiomyomatose héréditaire (HLRCC), causée par une mutation germinale du gène codant la fumarate hydratase (FH) (30).

L'étude récente du The Cancer Genome Atlas (TCGA) à partir d'analyses multi-plateformes (génomique, exome, transcriptome, méthylome, protéome) a permis d'affiner la caractérisation de ces sous-types histologiques. En effet, il a été confirmé l'identification de mutations somatiques de c-MET dans les tumeurs papillaires de type 1 dans 17% des cas. Elle a également permis d'identifier des altérations moléculaires caractérisant les pRCC de type 2 telles qu'une perte de CDKN2A, des mutations de SETD2, des fusions TFE3 et une augmentation de l'expression de la voie NRF2-antioxydant (ARE) (**Tableau 1**). Par ailleurs, un phénotype CIMP (CpG Island Methylator Phenotype) a été décrit comme constituant un sous-groupe distinct de pRCC de type 2 caractérisé par une faible survie et une mutation du gène codant pour FH (7).

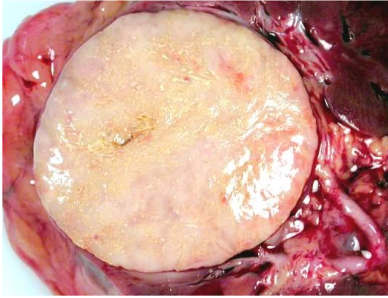

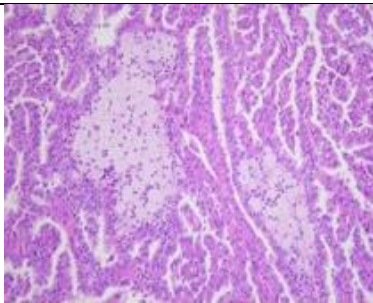
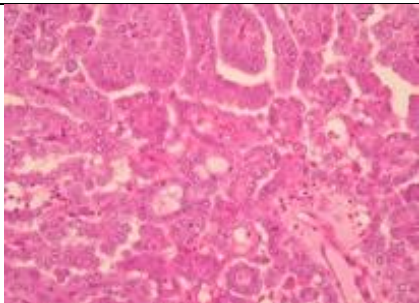
	Carcinome papillaire	
Origine histologique	Tube proximal	
Prévalence	10 à 15%	Rare
Caractéristiques cliniques	Type 1 (classification Delahunt & Eblé) Terrain : Insuffisance rénale chronique	Type 2 (classification Delahunt & Eblé) Age jeune : médiane 40 ans
Taille	Multiple ou bilatéral, association avec adénome papillaire (< 5mm)	Tumeurs volumineuses Stade 3 ou 4
Aspect macroscopique	Friable +++, compact +++, kystique +/- (forme nécrosée), Blanc, jaune (piqueté), bien limité	Friable +++, cérébriforme Solide, +/- kystique Mal limité, nécrose +++
Photographie de l'aspect macroscopique		
Architecture Cytologie	Architecture tubulo-papillaire, une seule assise de petites cellules basophiles, nucléole petit, macrophages spumeux, lymphocytes, micro-calcifications	Architecture papillaire, plusieurs assises de cellules éosinophiles de grande taille Noyaux globuleux nucléolés Peu de macrophages spumeux
Photographie de l'aspect microscopique		
Immuno-histochimie	EMA +, KL 1 +, Vimentine +, CK 7 +, p504s +, RCC +/-, CD10 +/-.	EMA +, KL 1 +, Vimentine +, CK 7 +/-, p504s +/-, RCC -/+, CD10+/-.
Altérations cytogénétiques	Gain Chromosome 7,17	Del Chromosome 9p
Altérations moléculaires	<i>MET</i> ; <i>TERT</i> ; <i>CDKN2A/B</i> ; <i>EGFR</i>	<i>SETD2</i> ; <i>CDKN2A/B</i> ; <i>NF2</i> ; <i>FH</i> ; <i>TERT</i>
Formes familiales	Gène <i>MET</i> muté dans HPRC	Gène <i>FH</i> dans HLRCC
Pronostic	Evolution indolente	Evolution plus agressive

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques, pathologiques, moléculaires et pronostiques des pRCC de type 1 et 2. D'après (6,8,10,31).

1.5. Thérapies ciblées et nccRCC

L'approche thérapeutique pour les patients atteints de nccRCC a historiquement reflété le traitement des patients atteints de ccRCC. Selon les dernières recommandations de l'EAU (European Association of Urology) et de l'ESMO (32,33), les patients atteints d'un ccRCC de bon pronostic sont traités en 1^{ère} ligne par du sunitinib ou pazopanib ; puis en 2^{ème} ligne et plus par du cabozantinib ou du nivolumab. Les patients dans les groupes intermédiaire ou mauvais pronostic sont traités en 1^{ère} ligne par la combinaison nivolumab et ipilimumab, ou cabozantinib ou sunitinib. En 2^{ème} ligne et plus, les patients initialement traités par immunothérapie sont traités par cabozantinib ou autre thérapie ciblée anti-VEGF ; alors que les patients traités initialement par thérapie ciblée sont traités par nivolumab ou cabozantinib.

Les patients atteints de nccRCC ont été largement exclus des essais cliniques étant donné l'hétérogénéité de cette population. La plupart des essais cliniques se concentrent sur les ccRCC, de sorte que les options thérapeutiques et les données cliniques dans les nccRCC sont plutôt limitées. En raison de la rareté et du petit nombre de patients dans les différents sous-types non à cellules claires, les essais cliniques concernant cette population ont été initialement largement limités aux études de phase II, la plupart étant des études simple bras non randomisées (34–37). Jusqu'à présent, il n'existe que des données limitées sur l'efficacité des thérapies ciblées dans les cas de nccRCC, avec une activité modérée en termes de taux de réponse et de survie. Le traitement des nccRCC repose sur 3 essais randomisés, de faible effectif, comparant les traitements par inhibiteur de mTOR tels que l'évérolimus ou temsirolimus et les traitements par inhibiteur du VEGF tels que le sunitinib. Dans l'étude ASPEN, sur 70 pRCC, le taux de réponse objective (ORR) était de 9% pour l'évérolimus et de 18% pour le sunitinib et l'OS était de 13,2 mois contre 31,5 mois en faveur du sunitinib (38). Dans l'essai ESPN, sur 27 pRCC, l'ORR était de 3% pour l'évérolimus et de 9% pour le sunitinib, l'OS était de 14,9 mois contre 16,2 mois, également en faveur du sunitinib (39). Bien que les

différences n'aient pas atteint la significativité statistique, probablement en raison de la petite taille des cohortes, ces petits essais randomisés suggèrent un bénéfice pour l'inhibiteur de VEGF comparé à un inhibiteur de mTOR dans les nccRCC. Dans l'étude de phase II, RECORD-3, la séquence du sunitinib suivie de l'évérolimus a été comparée à la séquence de l'évérolimus suivie du sunitinib chez les patients précédemment non traités avec un RCC métastatique. Une analyse en sous-groupe des 66 patients nccRCC (dont 20 pRCC dans chaque bras) a montré une tendance favorisant le sunitinib. La survie sans progression était de 5,1 mois pour l'évérolimus contre 7,2 mois pour le sunitinib (HR 1,54, IC à 95% [0,86, 2,75]) (40). De plus, une méta-analyse, incluant les essais ASPEN et ESPN, a confirmé la tendance à la supériorité du sunitinib sur l'évérolimus en termes de PFS, bien que les résultats ne soient également pas significatifs (HR 1,30, IC à 95% [0,91-1,86], $p=0,15$) (41). Malgré le manque de puissance pour des conclusions définitives, ces résultats semblent confirmer l'efficacité de ces thérapeutiques dans les nccRCC.

De même, deux études rétrospectives récentes ont évalué le cabozantinib, inhibiteur multi tyrosine kinases, dont inhibiteur de MET, dans les nccRCC métastatiques, incluant respectivement 30 et 112 nccRCC (42,43). Sur 112 patients dont 66 pRCC, les résultats étaient plutôt encourageants avec un temps jusqu'à échec du traitement (TTF) de 6,7 mois, une PFS de 7 mois et une OS de 12 mois (43). Ce traitement apparaît comme une option thérapeutique supplémentaire mais qui reste à confirmer en prospectif.

1.6. Thérapies ciblées et PRCC

Les essais thérapeutiques concernant les nccRCC, bien que peu nombreux, ont inclus des populations de patients hétérogènes. L'analyse spécifique des pRCC s'avère alors encore plus rare.

Plusieurs études ont été menées sur des sous-ensembles spécifiques de patients qui apportent un éclairage sur ces entités distinctes (**Tableau 2**). Dans l'étude de phase II non randomisée, SUPAP, 61 patients atteints de pRCC naïfs de traitement ont été traités par sunitinib. La PFS médiane était de 6,6 mois (IC à 95% [2,8, 14,8]) chez les patients atteints de pRCC de type 1 et de 5,5 mois (IC à 95% [3,8, 7,1]) chez les patients atteints de pRCC de type 2. L'OS médiane était de 17,8 mois (IC à 95% [5,7, 26,1]) et de 12,4 mois (IC à 95% [8,2, 16,0]), respectivement, chez les patients atteints de RCC papillaire de type 1 et 2 (44). De même, l'étude de phase II, RAPTOR, a étudié le rôle de l'évérolimus en première ligne et a rapporté une OS médiane de 21,0 mois (IC à 95% [11,1, 28,0]) (45). Un autre inhibiteur de tyrosine-kinases (TKI), l'erlotinib, a été évalué dans les pRCC, retrouvant un taux de réponse objective similaire aux 2 études précédentes, de 11% (5 sur 45 patients, IC à 95% [3,24]). La survie globale semblait meilleure avec une médiane de 27 mois (IC à 95% [13,36]) mais avec une toxicité non moindre (46). Nous devons également citer l'étude française multicentrique de phase II, AXIPAP, présentée à l'ESMO en 2018 : 45,2% des patients atteints d'un pRCC métastatiques étaient non progressifs à 24 mois, sous Axitinib en 1ère ligne, avec un meilleur taux de réponse partielle dans les pRCC de type 2 (35,7% vs 7,7% pour les pRCC de type 1), une PFS de 24,7 semaines (IC à 95% [21,38]) et une OS de 18,9 mois (47).

Il a été également évalué des traitements inhibiteurs de MET, justifiés par la mutation activatrice c-MET retrouvée dans les pRCC. Dans l'étude de phase 2 évaluant le foretinib, les patients ont été stratifiés selon la présence ou l'absence d'activation de la voie MET. Sur les 74 patients inclus, l'ORR était de 13,5% et la PFS médiane était de 9,3 mois. La présence d'une

mutation MET germinale s'est avérée être hautement prédictive d'une réponse (50% vs 9%, avec et sans mutation MET germinale respectivement) (48). De même, le savolitinib, inhibiteur de la tyrosine kinase MET hautement sélectif, évalué également par l'équipe de Choueiri, retrouvait une PFS médiane de 6,2 mois (IC 95% [4,1 à 7 mois]) chez les patients atteints de pRCC-MET mutée et de 1,4 mois (IC 95% [1,4 à 2,7 mois]) chez les patients atteints de pRCC-MET indépendant (HR 0,33; IC à 95% [0,20 à 0,52]) (49). Enfin, l'étude CREATE évaluant le crizotinib dans les pRCC de type 1 en prospectif retrouvait une ORR de 50% chez les 4 patients mutés MET inclus, versus 11% chez les patients non mutés (50). Ces résultats ciblant la voie spécifique de MET apparaissent encourageants dans les pRCC. L'étude de phase 2 randomisée, PAPMET, évaluant le sunitinib versus cabozantinib versus crizotinib versus savolitinib, dans les pRCC de types 1 et 2 est en cours (NCT02761057). L'inclusion dans les bras savlotinib et crizotinib a cependant été récemment arrêtée par défaut d'activité.

Auteurs (étude)	Type de TKI	Nombre de lignes	N	ORR (%)	PFS (mois)	OS (mois)
Ravaud et al. 2015 (SUPAP (44))	sunitinib	1 ^{ère} ligne	61 Type 1 : 15 Type 2 : 46	NA 13 11	NA 6,6 5,5	NA 17,8 12,4
Escudier et al. 2016 (RAPTOR (45))	évérolimus	1 ^{ère} ligne	88 Type 1 : 14 Type 2 : 43	1 NA NA	4,1 7,9 5,1	21,4 28 24,2
Negrier et al. 2018 (AXIPAP (47))	axitinib	1 ^{ère} ligne	42 Type 1 : 13 Type 2 : 28	26,2 7,7 37,7	6 5,2 6	18,9 NR 17,4
Gordon et al. 2009 (46)	erlotinib	Toutes lignes	45	11	NA	27
Choueiri et al. 2013 (48)	foretinib	1 ^{ère} ou 2 ^{ème} ligne	74	13,5	9,3	NR
Schöffski et al. 2017 (CREATE (50))	crizotinib	Toutes lignes	Type 1 : 23 MET+ : 4 MET- : 19	17 50 11	5,8 NR 3,0	30,5 NR 14,5
Choueiri et al. 2017 (49)	savlotinib	Toutes lignes	109 MET+ : 44 MET- : 65	7 18 0	NA 6,2 1,4	NA NA NA

Tableau 2 : Séries prospectives évaluant les traitements par thérapies ciblées dans les pRCC.
N : nombre de patients. TKI : inhibiteurs de tyrosine-kinase. NA : non disponible. NR : non atteint. ORR : taux de réponse objective (en %). PFS : survie sans progression (médiane, en mois). OS : survie globale (médiane, en mois).

1.7. Immunothérapie et nccRCC

Depuis 2015, l'immunothérapie a montré son intérêt dans les cancers du rein métastatiques à cellules claires, d'abord en 2ème ligne (51), puis récemment en 1ère ligne (52). A l'instar du développement des thérapies ciblées dans les nccRCC, ces agents n'ont pas été testés dans les nccRCC au sein d'essais d'enregistrement. La plupart des essais évaluant les inhibiteurs de checkpoint dans le RCC ont effectivement exclus les histologies non à cellules claires.

Le rôle de ces agents chez les patients atteints de nccRCC métastatiques n'a pas encore été défini mais ces inhibiteurs de points de contrôle immunitaire pourraient être une nouvelle option très intéressante. En effet, les cellules tumorales nccRCC expriment PD-L1 (programmed death-ligand 1) comme indiqué par des données in vitro : Parmi 101 patients, 11 (10,9%) ont été considérés PD-L1 + dans les cellules tumorales: 2/36 (5,6%) RCC chromophobes, 5/50 (10%) RCC papillaires, 3/10 (30%) RCC avec translocation Xp11 et 1/5 (20%) carcinome des tubes collecteurs de Bellini (53).

Nous retrouvons quatre séries rétrospectives récentes mais avec une majorité de petits effectifs concernant l'immunothérapie et les nccRCC. Une étude rétrospective évaluant le cabozantinib versus nivolumab en 2ème ligne en vie réelle, a inclus 278 patients avec un RCC métastatique, issus de la base de données de l'IMDC dont 26 patients nccRCC dans le bras immunothérapie. Il n'est pas retrouvé de différence significative tant sur l'OS que la PFS entre les 2 bras (54). De même, l'étude rétrospective de *Yip et al.* publiée plus récemment évalue la réponse à l'immunothérapie de 687 patients avec un RCC métastatique issus également de la même base de données de l'IMDC dont 65 patients nccRCC. Il y est retrouvé une différence significative en terme d'OS en 1ère ligne d'immunothérapie entre les ccRCC et les nccRCC, sans pouvoir conclure que le sous-type histologique puisse être un facteur prédictif à la réponse à l'immunothérapie (55). L'étude rétrospective multicentrique américaine de *Koshkin et al.* a

inclus 41 patients nccRCC sous nivolumab dont 16 papillaires. Nous pouvons observer une réponse objective ou une maladie stable principalement dans l'histologie papillaire, tubes collecteurs ou non classifié ; mais également une progression de la maladie pour 64% des papillaires (56). De même, l'étude rétrospective de *McKay et al.* décrit des résultats similaires, avec 44 patients nccRCC inclus dont 14 papillaires ; 8 en réponse partielle ou maladie stable, et 6 en progression sous immunothérapie (57) (**Tableau 3**).

A l'heure actuelle, quelques rares études prospectives ont inclus quelques patients atteints de nccRCC, notamment une étude de phase I, évaluant la réponse à l'atezolizumab, un anticorps monoclonal PD-L1, ayant inclus 70 patients atteints de RCC, dont 10% (7 patients) avaient une histologie nccRCC (58). L'ORR des patients évaluable présentant un ccRCC était de 15%. Bien qu'aucune réponse objective n'ait été observée chez les patients présentant un nccRCC, un patient a présenté une réponse continue en fonction de critères de réponse immunitaire. Nous attendons plusieurs études à venir. L'étude CheckMate 374 évaluant le nivolumab dans les nccRCC est en cours (NCT02596035). L'étude Keynote 427 cohorte B présentée à l'ASCO GU 2019 est encourageante avec des résultats positifs dans les nccRCC traités par pembrolizumab, un anticorps anti-PD-1 (programmed death- 1), en 1ère ligne, et notamment dans les pRCC (59) (**Tableau 3**). De même, plusieurs études prospectives évaluant des combinaisons de traitements sont en cours. Les résultats préliminaires de l'étude de *McKay et al.* évaluant l'atezolizumab associé au bevacizumab ont été présenté à l'ASCO GU 2019 (NCT02724878). Sur 36 nccRCC dont 14 pRCC inclus, 9 patients (soit 25%) ont présenté une réponse objective (60) (**Tableau 3**). L'étude SUNNIFORECAST évaluant le nivolumab associé à l'ipilimumab, anticorps anti-CTLA4 est en cours d'inclusion (NCT03075423).

Auteurs (étude)	Type d'étude	Type d'immuno-thérapie	N nccRCC pRCC	ORR (%)	SD (%)	PD (%)	TTF (mois)	PFS (mois)	OS (mois)
Koshkin et al. 2018 (56)	rétrospective	nivolumab	41 16	7 (20) 2 (14)	10 (29) 3 (21)	18 (51) 9 (64)	NA NA	3,5 NA	NR NA
McKay et al. 2018 (57)	rétrospective	Toutes (mono ou en combinaison)	44 14	8 (18) 4 (28)	15 (34) 4 (29)	21 (48) 6 (43)	4,1 5,5	NA NA	12,9 NA
McDermott et al. 2019 (59)	prospective	pembrolizumab	165 118	41 (25) 30 (25)	NA 41 (35)	NA 47 (40)	NA NA	4,1 NA	NR NA
McKay et al. 2019 (60)	prospective	atezolizumab + bevacizumab	36 14	9 (25) NA	18 (50) NA	9 (25) NA	NA NA	NA NA	NA NA
Powles et al. 2019 (61)	prospective	durvalumab + savlotinib	41 pRCC	11 (27)	NA	NA	NA	3,3	NA

Tableau 3 : Séries rétrospectives et prospectives évaluant l'immunothérapie dans les nccRCC dont les pRCC.

N : nombre de patients. NA : non disponible. NR : non atteint. nccRCC : Carcinome rénal non à cellules claires. pRCC : carcinome rénal papillaire. Le taux de réponse objective (ORR), maladie stable (SD) ou maladie en progression (PD) sont définis selon les critères RECIST v1.1. TTF : temps jusqu'à échec du traitement (médiane, en mois). PFS : survie sans progression (médiane, en mois). OS : survie globale (médiane, en mois).

1.8. Immunothérapie et pRCC

A l'heure actuelle, nous n'avons pas d'essais cliniques évaluant l'immunothérapie spécifiquement dans les pRCC. Nous pouvons cependant citer l'étude CALYPSO qui évalue la combinaison durvalumab, anti-PDL1, associé au savlotinib, inhibiteur de MET, dans les pRCC, actuellement en cours (NCT02819596). Avec un suivi median de 8,9 mois, l'ORR était de 27% avec une PFS médiane de 3,3 mois (IC à 95% [1,5,NR]). Chez les patients traités en 1^{ère} ligne (n=28), les résultats étaient d'autant plus encourageants avec un taux de réponse objective de 29% et une PFS médiane de 12 mois (IC à 95% [1,5,NR]). Les données concernant la survie globale sont en attente (61) (**Tableau 3**).

2. Rationnel biologique

2.1. Infiltration immunitaire : généralités dans le cancer

Afin de comprendre les modes d'actions des inhibiteurs des points de contrôle immunitaire, il est important de comprendre l'interaction dynamique entre les cancers et le système immunitaire au cours de l'évolution de la maladie.

La notion selon laquelle le système immunitaire régule le développement du cancer est dorénavant acquise et considérée comme caractéristique du cancer (62). La théorie de l'immuno-editing développe cette notion en y décrivant trois phases : élimination, équilibre, échappement (63). La phase d'élimination consiste en la reconnaissance des cellules cancéreuses et leurs destructions par le système immunitaire. La phase d'équilibre est une phase de persistance et de tolérance de la tumeur malgré une pression par le système immunitaire pour la rejeter. La phase d'échappement contribue au développement des cellules cancéreuses par inefficacité du système immunitaire et émergence de clones tumoraux résistants (64).

Les lymphocytes T (LT) agissent comme suppresseurs des cellules tumorales extrinsèques et apparaissent alors être le principal mécanisme immunitaire d'éradication de la tumeur. En effet, les cellules T CD8⁺ cytotoxiques sont des cellules immunitaires particulièrement efficaces pour la médiation des réponses immunitaires anti-tumorales. Ces cellules peuvent apprendre à reconnaître les antigènes spécifiques de la tumeur présentés par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) via les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Deux signaux sont nécessaires pour l'activation des lymphocytes T : la reconnaissance de l'antigène peptidique présenté par le CMH (signal 1) et la co-stimulation par CD28 après liaison à CD80 ou CD86 exprimée par les CPA (signal 2). Les LT, ainsi activés, effectuent la destruction ciblée des cellules tumorales, notamment par l'intermédiaire de protéines telles que granzyme A (GZMA) et perforine (PRF1) (**Figure 1A**).

Une réponse immunitaire anti-tumorale spécifique se traduit donc par une infiltration lymphocytaire dans les tumeurs (65). En effet, l'infiltration tumorale par les LT s'est révélée être corrélée à un bon pronostic dans la plupart des cancers (66). De même, la réponse immunitaire adaptative par les LT CD8+ joue un rôle crucial dans l'activité anti tumorale des inhibiteurs des points de contrôle (67,68).

2.2. Principes de l'immunothérapie par les inhibiteurs de checkpoint

CTLA4, un des premiers récepteurs inhibiteurs à jouer un rôle dans la suppression des réponses des LT, est structurellement similaire à CD28 et se lie à CD80 et CD86 avec une affinité plus élevée que CD28 (69,70). Il a été suggéré que l'expression de CTLA-4 interfère avec l'activation des LT en réduisant la co-stimulation CD28, et ainsi diminue l'activité effectrice des LT. Les anticorps neutralisants anti-CTLA-4 (ipilimumab) inhibent la liaison de CTLA-4 à CD80/86 et favorisent alors l'activation des LT (**Figure 1B**).

Le récepteur inhibiteur PD-1 et ses ligands PD-L1 ont gagné en importance ces dernières années avec l'approbation de plusieurs anticorps ciblant PD-1 ou PD-L1 pour le traitement du cancer (nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab, avelumab...) (71). PD-1 est exprimé sur les LT, les lymphocytes B (LB) et certaines cellules myéloïdes ; cependant, son rôle est mieux caractérisé dans les LT. L'expression de PD-1 sur les LT est induite par la stimulation antigénique (72). Contrairement au CTLA-4, qui limite l'activation précoce des LT, PD-1 exerce principalement son effet inhibiteur sur les LT en périphérie où ces derniers rencontrent les ligands PD-1 (73). Deux ligands de PD-1 ont été identifiés jusqu'à présent, PD-L1 et PD-L2 (74,75), qui sont exprimés par différents types de cellules, y compris les cellules tumorales, les cellules dendritiques myéloïdes dérivées des monocytes, les cellules épithéliales, les LT et les LB. La liaison entre PD-1 et son ligand interfère avec la cascade de signalisation en aval du récepteur des lymphocytes T (*T-cell receptor*, TCR). Cette liaison peut ainsi réprimer les

fonctions effectrices des LT voire entrainer leur épuisement. Les anticorps qui bloquent l'interaction de PD-1 avec PD-L1/2 rétablissent la fonction effectrice des LT (**Figure 1C**) (76).

De cette manière, les inhibiteurs des points de contrôle permettent au système immunitaire d'améliorer l'efficacité de la lutte contre les cellules malignes (77). Le prérequis principal pour induire une réponse immunitaire est alors la préexistence des lymphocytes T, notamment cytotoxiques, limitée par des points de contrôle immunitaires spécifiques (78). Les tumeurs des répondeurs aux anti-PD-1 apparaissent bien enrichies en CD8+ cytotoxiques (79), ce qui en fait des cellules clés pour une réponse à l'immunothérapie.

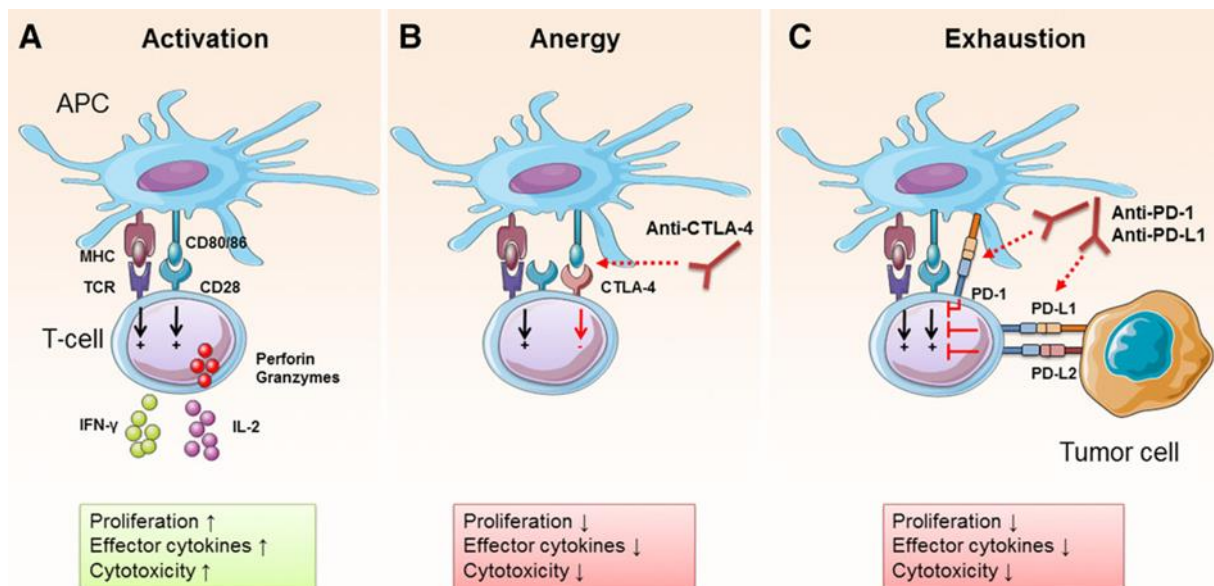


Figure 1 : Mécanismes d'action des points de contrôle immunitaires CTLA-4 et PD-1. D'après (80). (A) Les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) présentent des antigènes aux lymphocytes T (LT) par interaction du CMH avec le TCR et co-stimulent les LT par liaison CD80/86 à CD28. Les LT ainsi activés, prolifèrent, sécrètent des molécules effectrices (IFN-γ, IL-2, perforine, granzyme) et acquièrent une activité cytotoxique. (B) CTLA-4, en se liant à CD80/86, limite la co-stimulation par CD28, conduisant à l'anergie des LT. Les LT anergiques ont une fonction effectrice limitée. Les anticorps anti-CTLA-4 inhibent la liaison de CTLA-4 à CD80/86 et favorisent alors l'activation des LT. (C) PD-1, exprimé sur les LT, peut se lier à PD-L1 et PD-L2, généralement exprimés par les CPA ou les cellules tumorales. La liaison entre PD-1 et son ligand interfère avec la cascade de signalisation en aval du TCR, réprimant ainsi les fonctions effectrices des LT jusqu'à épuisement. Les anticorps qui bloquent l'interaction de PD-1 avec PD-L1/2 rétablissent la fonction effectrice des LT. Les flèches noires indiquent l'activation et les flèches rouges pleines indiquent la suppression. Les flèches rouge pointillées indiquent le blocage des interactions récepteur-ligand.

2.3. Infiltration immunitaire et RCC

Le RCC est reconnu depuis longtemps comme une maladie sensible à l'immunothérapie. Il y est bien décrit une infiltration lymphocytaire mais sa valeur pronostique semble discutée (81,82). L'infiltration CD8+ intra-tumorale apparaît de mauvais pronostic dans le ccRCC, contrairement à la plupart des autres cancers (83). Cependant ce fait est peu expliqué dans la littérature, avec des résultats contradictoires concernant notamment l'infiltration CD8+ activée, autrement dit, l'infiltration lymphocytaire cytotoxique, qui pourrait quant à elle être significativement associée à un bon pronostic (79,84,85).

De même, spécifiquement dans le pRCC, nous retrouvons également une infiltration lymphocytaire mais celle-ci semble moindre par rapport aux ccRCC (79). Une signature immunitaire se basant sur l'expression des gènes Th2, lymphocytes auxillaires non cytotoxiques, a été décrite récemment mettant en évidence que les CIMP-RCC semblaient avoir une expression accrue de la signature, similaire aux ccRCC, contrairement aux autres pRCC (86).

Il semble donc bien que les pRCC puissent présenter une immunogénicité, et donc une réponse à l'immunothérapie, différente que les ccRCC. Cependant, à notre connaissance, il n'existe pas d'analyse de l'infiltration lymphocytaire cytotoxique dans ce type de tumeurs. Il pourrait alors être intéressant de réaliser des explorations quantitatives de l'expression génique de l'infiltration lymphocytaire, notamment cytotoxique, dans les pRCC (87).

3. Hypothèse de travail et objectifs

Notre hypothèse est qu'une infiltration lymphocytaire cytotoxique intratumorale plus importante permettrait une meilleure réponse à l'immunothérapie.

Notre travail a eu pour but 1) d'évaluer rétrospectivement l'activité et la tolérance des inhibiteurs de checkpoint spécifiquement chez les patients atteints de pRCC métastatiques (**Partie 1**), 2) d'étudier le rationnel biologique de cette approche par immunothérapie, en analysant l'infiltrat immunitaire cytotoxique au plan transcriptomique (**Partie 2**).

PARTIE 1

Are immune checkpoint inhibitors a valid option for papillary Renal Cell Carcinoma? A multicenter retrospective study

M. de Vries-Brilland¹, M. Gross-Goupil², V. Seegers³, E. Boughalem¹, B. Beuselinck⁴, C. Thibault⁵, C. Chevreau⁶, S. Ladoire⁷, P. Barthelemy⁸, S. Negrier⁹, D. Borchellini¹⁰, O. Huillard¹¹, L. Geoffrois¹², G. Gravis¹³, C. Saldana¹⁴, A. Thiery-Vuillemin¹⁵, B. Escudier^{16,17}, A. Ravaud², L. Albigès¹⁷

¹Department of Medical Oncology, Integrated Centers of Oncology (ICO) Paul Papin, Angers, France

²Department of Medical Oncology, Hôpital Saint-André, University of Bordeaux-CHU, Bordeaux, France

³Biostatistics department, Integrated Centers of Oncology (ICO) Paul Papin, Angers, France

⁴University Hospitals Leuven, Leuven Cancer Institute, Leuven, Belgium

⁵European George Pompidou Hospital, Paris, France

⁶IUCT-Onco-pôle Institut Claudius Regaud, Toulouse, France

⁷Department of Medical Oncology, Center GF Leclerc, Dijon, France

⁸Medical Oncology, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

⁹Centre Léon Bérard, Lyon, France

¹⁰Centre Antoine Lacassagne, Nice, France

¹¹Cochin Hospital, Paris Descartes University, AP-HP, CARPEM, Immunomodulatory Therapies Multidisciplinary Study Group, Paris, France

¹²Department of Medical Oncology, Institut de Cancérologie de Lorraine, Vandœuvre-Lès-Nancy, France

¹³Medical Oncology, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

¹⁴Oncology Department, Hôpital Henri Mondor, APHP, Créteil, France

¹⁵CU-PH Medical Oncology, Besancon, France

¹⁶U1015 INSERM, Gustave Roussy Cancer Campus, Paris Saclay University, Villejuif, France

¹⁷Medical Oncology, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France, Villejuif, France

Poster présenté à l'ASCO GU 2019 (Merit Award)

Manuscrit soumis en juin 2019

Manuscript Number:

Title: Are immune checkpoint inhibitors a valid option for papillary
Renal Cell Carcinoma? A multicenter retrospective study

Article Type: Original Article

Section/Category: Kidney Cancer (KID)

Keywords: metastatic papillary Renal-Cell Cancer, immunotherapy, PD-1/PD-
L1 inhibitors

Corresponding Author: Dr. Laurence Albiges, MD, PhD

Corresponding Author's Institution: Gustave Roussy

First Author: Manon DE VRIES-BRILLAND

Order of Authors: Manon DE VRIES-BRILLAND; Marine GROSS-GOUPIL; Valérie
SEEGERS; Elouen BOUGHALEM; Benoit BEUSELINCK; Constance THIBAUT;
Christine CHEVREAU; Sylvain LADOIRE; Philippe BARTHELEMY; Sylvie NEGRIER;
Delphine BORCHIELLINI; Olivier HUIILLARD; Lionel GEOFFROIS; Gwenaëlle
GRAVIS; Carolina SALDANA; Antoine THIERY-VUILLEMIN; Bernard ESCUDIER;
Alain RAVAUD; Laurence ALBIGES

ABSTRACT

Background: Papillary Renal Cell Carcinoma (pRCC) is the most common non-clear cell RCC (nccRCC) and represents up to 15% of RCC. Pivotal studies evaluating immune checkpoint inhibitors mostly excluded nccRCC.

Objective: To evaluate the activity of immune checkpoint inhibitors specifically in metastatic pRCC

Design, setting, and participants: We retrospectively investigated the efficacy and safety of PD-1/PD-L1 inhibitors in patients with metastatic pRCC from 15 centers in France and Belgium.

Outcome measurements and statistical analysis: Primary endpoint was time-to-treatment failure (TTF). Secondary endpoints included objective response rate (ORR), overall survival (OS) and treatment-related adverse events (TRAEs). Descriptive statistics and Kaplan-Meier method were used for the overall cohort and by histology subgroups.

Results and limitations: From 02/2016 to 01/2019, 57 pRCC patients were included. Histology included 16 (28%) type 1 pRCC, 34 (60%) type 2 pRCC, and 7 (12%) unclassified pRCC. Immune checkpoint inhibitors treatment was used in the first-line setting in 4 patients (7%), in second-line in 32 patients (56%) and in third-line or beyond in 21 patients (37%). With a median follow up of 12 months (95% Confidence Interval (CI): 9.9-21.0), the median TTF was 3.1 months (95%CI: 2.7-5.0). Median TTF was 5 months (95%CI: 2.7-NA) in type 1, 2.9 months (95%CI: 2.4-6.7) in type 2 and 4.1 months (95%CI: 2.3-NA) in unclassified pRCC ($p=0.1$). Among the 55 patients evaluable for ORR, best response was complete response/partial response in 6 patients (11%), stable disease in 18 patients (33%) and progressive disease in 31 patients (56%). Median OS was 14.6 months (95%CI: 9.0- not reached). TRAEs of grade 3-4 were noted in 6 patients (10%) leading to treatment discontinuation, no grade 5 TRAEs were observed.

Conclusion: PD-1/PD-L1 inhibitors exhibit limited activity as monotherapy in this pRCC population, which remains an unmet need. Our findings underline the need for further prospective clinical trials evaluating immune checkpoint inhibitors combinations in patients with pRCC.

Patient summary: In this study, we evaluated the activity of immune checkpoint inhibitors specifically in metastatic papillary renal cell carcinoma. This treatment may be a therapeutic option but it would be interesting to study treatment combinations and to better target patients who could benefit.

Keywords: metastatic papillary renal-cell cancer; immunotherapy; PD-1/PD-L1 inhibitors

ORIGINAL ARTICLE

INTRODUCTION

Papillary Renal Cell Carcinoma (pRCC) is the most common non-clear cell RCC (nccRCC) (1) and represents up to 15% of RCC (2). The denomination nccRCC comprises a heterogeneous group of tumors with distinct histological and molecular characterization (3). They have significantly lower response rates and lower median progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) than those with clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) (4,5). Based on pathological assessment, pRCC are routinely classified in 3 subtypes: type 1, commonly associated with multiple or bilateral small tumors with a favorable prognosis and few metastatic development, type 2, commonly more aggressive and associated with a dismal prognosis, and unclassified pRCC (6).

The therapeutic management for patients with metastatic nccRCC has historically been similar to metastatic ccRCC given the lack of dedicated trials (7). The clinical efficacy of immunotherapy treatment is established in metastatic RCC with a clear cell histologic component. Treatment with nivolumab, a monoclonal antibody specific for programmed death-1 (PD-1), led to improved OS in a phase III metastatic ccRCC trial (8). Additionally, the combination of first-line nivolumab and ipilimumab, a monoclonal antibody against cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4), resulted in an improved objective response rate (ORR) and OS in intermediate and poor-risk ccRCC (9). However, these pivotal studies evaluating immune checkpoint inhibitors (ICI) excluded nccRCC. Small retrospective cohorts report discordant results regarding nccRCC response to ICI (10–14). The activity of PD-1/PD-L1 inhibitors (PD-1i) in pRCC remains to be demonstrated.

Therefore, we retrospectively investigated the efficacy and safety of PD-1i specifically in metastatic pRCC patients.

METHODS

We performed a multicentre, international, retrospective study of all consecutive metastatic pRCC patients treated with ICI. Only de-identified data were shared with the coordinating institution (Integrated Center for Oncology, Angers, France). This study was approved by independent ethics committee and all patients were informed.

Eligibility criteria was: histologically confirmed pRCC by a centralized pathology review; presence of metastatic disease; treatment with PD-1i (at least with one dose) during any treatment line and

available clinical; and imaging data prior to initiation of treatment. To be eligible for response assessment, patients needed to have at least one CT scan following PD-1i treatment or to have had clinical progression as assessed by the physician. Patients' baseline characteristics, treatment outcome and safety were collected from retrospective chart review by investigators at each institution between 2016 and 2019. Patient scans prior to initiation of PD-1i and on treatment were reviewed locally by a participating investigator at each institution. Clinical and radiological assessments were done periodically according to standard of care.

Primary endpoint was time-to-treatment failure (TTF), calculated from the date of initiation of ICI to the date of discontinuation of the treatment or death, or censored at the last follow-up date or date of discontinuation for toxicity. Objective response rate (ORR) was defined as the proportion of patients with complete (CR) or partial responses (PR) stable disease (SD) and progressive disease (PD) as the best radiological response on PD-1i, were defined by RECIST version 1.1 (15). Overall survival (OS) was defined as the time from initiation of treatment until the time of death or last follow-up. Duration of follow-up was defined as the time from the date of first PD-1i dose to the date of last follow up or documented date of death. Duration of PD-1i treatment was defined as the time from the date of first PD-1i dose to the date of last PD-1i dose. For patients achieving CR or PR, the time to best response was defined as the time from the date of first PD-1i dose until the date of first documentation of best treatment radiological response. Duration of response was defined as the time from first documentation of response until the date of radiographically confirmed PD. Only Grade 3 or 4 treatment-related adverse events (TRAEs) were collected retrospectively by the investigators using the Common Terminology Criteria for Adverse Events (version 4.0).

Descriptive statistics were used to tabulate patient and treatment characteristics. Clinical and disease characteristics were summarized as median and interquartile range (IQR) for continuous variables, and as number and percentage for categorical variables. The statistical tests used were non-parametric tests taking into account the size of the cohort. Median TTF, OS, follow-up, treatment duration, duration of response and time to best response were calculated with the Kaplan-Meier method for the overall cohort and by histological subgroups. Statistical analyses were done with R software (version 3.5.2).

RESULTS

From February 2016 to January 2019, 57 patients with pRCC treated with PD-1i, were included in this analysis across 15 centers. Most patients were men (75%) and had a good general condition with

Karnofsky index greater than or equal to 80% (68%). Median age at initiation of PD-1i-treatment was 65 years (IQR 19-85).

Histology included 16 (28%) type 1 pRCC, 34 (60%) type 2 pRCC, and 7 (12%) unclassified pRCC. Breakdown by International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium (IMDC) risk group (16) at the start of PD-1i treatment was 19% favorable, 39% intermediate and 33% poor. The majority of patients (90%) had a prior nephrectomy. Patients had metastatic cancer in retroperitoneal and mediastinal lymph nodes (53% and 46% respectively), lung (51%), liver (30%) and bone (25%). In patients who had received previous systemic therapy, the most common treatments included sunitinib (58%), axitinib (33%), cabozantinib (16%), pazopanib (10%), and everolimus (10%) (Table 1).

PD-1i was used in first-line setting in 4 patients (7%), in second-line in 32 patients (56%) and in third-line or beyond in 21 patients (37%). ICI used were PD-1 inhibitors in 54 patients (95%) and PD-L1 inhibitors in 3 patients (5%). Immune checkpoint inhibitors were used as single agent in 56 patients (98%) and 1 patient (2%) was treated by nivolumab-ipilimumab combination.

Median TTF was 3.1 months (95% Confidence Interval (CI): 2.7, 5.0) for the whole cohort. Median TTF was 5 months (95%CI: 2.7-NA) in type 1, 2.9 months (95%CI: 2.4-6.7) in type 2 and 4.1 months (95%CI: 2.3-NA) in unclassified pRCC (Figure 1), without significant difference between histological subtypes ($p=0.1$).

A total of 55 patients were considered evaluable for treatment response. The ORR determined by local investigators was 11% (6 patients), including 2 CR and 4 PR. For 18 (33%) patients, SD was the best response. PD was noted as the best response for 31 patients (56%). Two patients were not evaluable because of death due to disease progression before the first evaluation of the response to treatment. Three patients were treated beyond radiographic progression but stopped within 3 months due to clinical progression. After PD-1i was discontinued due to TRAEs of grade 3 or 4, 3 patients had documented radiographic PD, 1 patients had documented radiographic SD and 1 patient always had documented radiographic CR.

Response rates according to pRCC subtypes are shown in Table 2. The ORR was 14%, 9% and 14% respectively in type 1, type 2 and unclassified pRCC, but the difference was not significant ($p = 0.13$). All CR ($n=2$) were seen in patients with type 2 pRCC, treated with nivolumab monotherapy, one in first-line and one in third-line. The only patient treated with PD-1i-CTLA4 combination in first-line, as part of a clinical trial, had a PD. When stratified by line of systemic therapy, PD-1i treatment in first-line versus in second-line or beyond, the proportion of patients who achieved an objective response was 25% (1 patient/4) versus 9.4% (5 patients/53) ($p=0.37$).

In the overall cohort, the median duration of PD-1i treatment was 3.1 months (95%CI: 2.7-4.4). After a median follow up of 12 months (95%CI: 9.9-21.0), the median time to best response among patients with CR or PR was 7.6 months (95%CI: 5.2-14.8). The median duration of response among patients with PR or CR was 4.7 months (95%CI: 1.84-NA). Among the 4 patients with PR as best response, 2 still had PR and were still receiving PD-1i treatment at the time of analysis. Among the 2 patients with CR as best response, with a median follow up from treatment start of 21 months, one was still receiving ICI treatment and one discontinued PD-1i due to treatment toxicity adverse effect.

At time of analysis, 40 patients had disease progression and 26 patients died (22 after documented disease progression). In the overall cohort, median OS was 14.6 months (95%CI: 9.0-NA) and 12-month OS rate was 52% (95%CI: 39-69). Median OS was 11.4 months (95%CI: 4.4-NA), 14.6 months (95%CI: 6.6-NA) and 17.6 months (95%CI: 10.1-NA), for type 1, type 2 and unclassified pRCC respectively. The OS difference between histological subtypes was not significant ($p=0.9$) (Figure 2).

Forty-nine patients discontinued PD-1i, and 8 remained on therapy. Reasons for treatment failure included progression (40 patients), toxicity (5 patients) or dead (4 patients). The majority of patients who had disease progression on nivolumab treatment were able to receive subsequent systemic treatment (26 of 40 patients, 65%), and 10 of these patients received multiple lines of subsequent treatment. The most common subsequent therapies after progression on PD-1i included: cabozantinib (20 patients), axitinib (5 patients), sunitinib (4 patients) and pazopanib (3 patients).

Immune checkpoint inhibitors treatment was overall well tolerated in this patient cohort. Treatment-related adverse events of grade 3-4 were noted in 6 patients (10%), and conducted to a discontinuation in 5 of them. No treatment-related deaths were observed. Among the more severe TRAEs, we noted respiratory failure associated with confusional syndrome, autoimmune hemolytic anemia, significant diarrhea and renal failure (1 patient each).

DISCUSSION

From a multicenter collaboration, we characterized the activity and toxicity of ICI in metastatic pRCC. To our knowledge, this is the largest retrospective cohort reported.

Activity in nccRCC has previously been reported but only in retrospective studies merging all subtypes (10) and can also be treated by combination with tyrosine-kinase inhibitors (TKI) (11). As a consequence, each subtype represented small numbers. Moreover, discordant results have been found : Malouf et al. found occasional responses to ICI in MITF family translocation RCC (14). According to Choueiri et al., who demonstrated a rationale to evaluate the efficacy of

immunotherapy in nccRCC, we can also note a heterogeneous expression of PDL1 for each subtype (17). The presence of variable lymphocyte infiltration between ccRCC and nccRCC has also been described, as between each subtypes of nccRCC (18), potentially modulating the response to immunotherapy. It was therefore relevant to evaluate the response to PD-1i specifically in pRCC.

In our cohort of patients with pRCC treated with ICI, the ORR was 11%. This result is similar to the Koshkin study, which included 16 pRCC with a partial response for 2 patients (10). Moreover, our primary endpoint, a TTF of 3.1 months, was comparable to report PFS (3.5 months). Here we used the TTF endpoint rather than progression-free survival as one of our main endpoints because it reflects real-world clinical practice; indeed, the choice to discontinue treatment is based on more than radiological progression alone. It includes physician's judgment of clinical benefit, toxicity, and patient tolerability. In addition, most of our patients with ORR are still in CR or PR at the time of the analysis. These patients appear to be long responders. Our ORR limited may seem less compared to the retrospective study of Martínez Chanzá N et al. They reported interesting results with an ORR of 27% and a 6.9-month TTF in pRCC treated with cabozantinib but 12-month OS was lower (46% versus 52% in our overall cohort) (19). Moreover, real-world IMDC data indicate comparable OS and TTF for nivolumab and cabozantinib for patients with metastatic RCC progressing after initial first-line TKI (13). In addition, we found an OS of 14.6 months in our cohort with 11.4 months for type 1 pRCC, 14.6 months for type 2 pRCC and 17.6 months for unclassified pRCC, all lines included. These results are similar to those found in the 2 major prospective studies in the pRCC specifically, SUPAP (20) and AXIPAP (21), evaluating treatment with TKI but only in the first-line. Taken together, these results suggest that PD-1i may have anti-tumor activity in some patients with metastatic pRCC, and therefore a place in the therapeutic strategy.

Beyond focusing on pRCC, we evaluated its various subtypes, which are not taken into account in studies on nccRCC. Indeed, each subtype appears different in terms of prognosis and response to immunotherapy treatment (6,22). In our analysis, ORR and TTF seem to favor type 1 pRCC than type 2 and unclassified pRCC despite a lack of significance. However, all CR were seen in patients with type 2 pRCC. It has been reported that PDL-1 appeared to be significantly more expressed in type 2 pRCC (23) but this data was not available in our study. The association of PDL-1 expression and response to immunotherapy requires further investigation in pRCC specifically. Given these results, we cannot yet conclude that the histological subtypes could have a predictive value for the response to immunotherapy. Given that some objective response may be possible in pRCC, it is important to precisely define which patient would benefit the most. Thus, predictive biomarkers are eagerly needed.

Our study has several limitations. First, its retrospective design may have led to potential selection bias. The tumor response assessment was based on an individual imaging evaluation, reviewed by investigators in each institution. However, these flaws might have been tempered by including patients from high value centers with genitourinary oncology expertise. We did not get data on sarcomatoid differentiation while these patients may be particularly sensitive to ICI (11,24).

Our study evaluates immunotherapy treatment in first-line, second-line, third-line and beyond. This heterogeneity may be difficult to interpret. However, some patients treated in the first line seemed to have an encouraging response to treatment with an ORR of 25%. This result is similar to the prospective study, Keynote 427-b, evaluating pembrolizumab in 1st line (NCT02853344). Indeed, this study included 165 patients with metastatic nccRCC. The ORR was 24.8% and median PFS was 4.1 months. Among the 118 pRCC included, all histological subtypes combined, the ORR was 25.4% (95%CI: 17.9-34.3) (25).

In our cohort, the majority of patients were treated with nivolumab monotherapy and second-line therapy. The CheckMate 374 study evaluating prospectively the efficacy of nivolumab in nccRCC is expected (NCT02596035). In addition, prospective studies evaluating treatments combined with ICI are ongoing in nccRCC, whether it is associated with an anti-CTLA4 (Sunniforecast study: NCT03075423), an anti-VEGF (NCT02724878), a TKI (NCT03136627), and notably an anti-MET (Calypso study: NCT02819596). So far, preliminary results look encouraging. These studies will be interesting to improve the therapeutic strategy in pRCC.

CONCLUSION

In summary, this retrospective study is the largest cohort of metastatic pRCC treated with ICI to date. PD-1i exhibit limited activity in this pRCC population. Obviously, efficacy of PD-1 inhibitors as monotherapy is limited. Beyond the histological subtype, predictive biomarkers are needed to select patients' responders. Our findings also underline the need for further prospective clinical trials evaluating ICI combinations in this specific population of patients with pRCC.

FIGURES

Table 1: Baseline characteristics and immune checkpoint inhibitors treatment

Table 2: Immune checkpoint inhibitors response by histological subtypes

Figure 1: Time to treatment failure (TTF) by histological subtypes

Figure 2: Overall survival (OS) by histological subtypes

REFERENCES

1. Lopez-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, Scarpelli M, Kirkali Z, Montironi R. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. *Int J Urol Off J Jpn Urol Assoc.* mai 2009;16(5):432-43.
2. Cancer Genome Atlas Research Network, Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, Creighton CJ, Fei SS, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 14 janv 2016;374(2):135-45.
3. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol.* juill 2016;70(1):93-105.
4. Vera-Badillo FE, Templeton AJ, Duran I, Ocana A, de Gouveia P, Aneja P, et al. Systemic Therapy for Non-clear Cell Renal Cell Carcinomas: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol.* avr 2015;67(4):740-9.
5. de Velasco G, McKay RR, Lin X, Moreira RB, Simantov R, Choueiri TK. Comprehensive Analysis of Survival Outcomes in Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma Patients Treated in Clinical Trials. *Clin Genitourin Cancer.* déc 2017;15(6):652-660.e1.
6. Leroy X, Zini L, Leteurtre E, Zerimech F, Porchet N, Aubert J-P, et al. Morphologic Subtyping of Papillary Renal Cell Carcinoma: Correlation with Prognosis and Differential Expression of MUC1 between the Two Subtypes. *Mod Pathol.* nov 2002;15(11):1126-30.
7. Giles RH, Choueiri TK, Heng DY, Albiges L, Hsieh JJ, Linehan WM, et al. Recommendations for the Management of Rare Kidney Cancers. *Eur Urol.* déc 2017;72(6):974-83.
8. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 5 nov 2015;373(19):1803-13.
9. Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Arén Frontera O, Melichar B, Choueiri TK, et al. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* [Internet]. 21 mars 2018 [cité 26 mars 2018]

10. Koshkin VS, Barata PC, Zhang T, George DJ, Atkins MB, Kelly WJ, et al. Clinical activity of nivolumab in patients with non-clear cell renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer* [Internet]. déc 2018 [cité 24 mars 2018];6(1).
11. McKay RR, Bossé D, Xie W, Wankowicz SAM, Flaifel A, Brandao R, et al. The Clinical Activity of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Metastatic Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res.* juill 2018;6(7):758-65.
12. Yip SM, Wells C, Moreira R, Wong A, Srinivas S, Beuselinck B, et al. Checkpoint inhibitors in patients with metastatic renal cell carcinoma: Results from the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Cancer.* 15 sept 2018;124(18):3677-83.
13. Stukalin I, Wells JC, Graham J, Yuasa T, Beuselinck B, Kollmansberger C, et al. Real-world outcomes of nivolumab and cabozantinib in metastatic renal cell carcinoma: results from the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Curr Oncol Tor Ont.* avr 2019;26(2):e175-9.
14. Boileve A, Carlo M, Barthelemy P, Oudard S, Borchiellini D, Voss M, et al. Immune checkpoint Inhibitors following targeted therapies in MITF family translocation renal cell carcinomas. Abstract ESMO 2017. ESMO 2017;
15. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. janv 2009;45(2):228-47.
16. Ko JJ, Xie W, Kroeger N, Lee J, Rini BI, Knox JJ, et al. The International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium model as a prognostic tool in patients with metastatic renal cell carcinoma previously treated with first-line targeted therapy: a population-based study. *Lancet Oncol.* mars 2015;16(3):293-300.
17. Choueiri TK, Fay AP, Gray KP, Callea M, Ho TH, Albiges L, et al. PD-L1 expression in nonclear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol.* 1 nov 2014;25(11):2178-84.
18. Charoentong P, Finotello F, Angelova M, Mayer C, Efremova M, Rieder D, et al. Pan-cancer Immunogenomic Analyses Reveal Genotype-Immunophenotype Relationships and Predictors of Response to Checkpoint Blockade. *Cell Rep.* 3 janv 2017;18(1):248-62.

19. Martínez Chanzá N, Xie W, Asim Bilen M, Dzimitrowicz H, Burkart J, Geynisman DM, et al. Cabozantinib in advanced non-clear-cell renal cell carcinoma: a multicentre, retrospective, cohort study. *Lancet Oncol.* 28 févr 2019;
20. Ravaud A, Oudard S, De Fromont M, Chevreau C, Gravis G, Zanetta S, et al. First-line treatment with sunitinib for type 1 and type 2 locally advanced or metastatic papillary renal cell carcinoma: a phase II study (SUPAP) by the French Genitourinary Group (GETUG)[†]. *Ann Oncol.* juin 2015;26(6):1123-8.
21. Negrier S, Rioux-Leclercq N, Ravaud A, Gravis G, Geoffrois L, Chevreau C, et al. Efficacy and safety of axitinib in metastatic papillary renal carcinoma (mPRC): results of a GETUG multicenter phase II trial (Axipap). *Abstract ESMO 2018.* 2018;
22. Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, Bethwaite PB, Stewart JH, Bilous AM. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol.* juin 2001;32(6):590-5.
23. Motoshima T, Komohara Y, Ma C, Dewi AK, Noguchi H, Yamada S, et al. PD-L1 expression in papillary renal cell carcinoma. *BMC Urol.* 13 janv 2017;17(1):8.
24. Joseph RW, Millis SZ, Carballido EM, Bryant D, Gatalica Z, Reddy S, et al. PD-1 and PD-L1 Expression in Renal Cell Carcinoma with Sarcomatoid Differentiation. *Cancer Immunol Res.* déc 2015;3(12):1303-7.
25. McDermott DF. KEYNOTE 427-Cohort B. *ASCO GU #Abstract 546.* 2019;

Take Home Message 40 words

We evaluated the efficacy of immune checkpoint inhibitors specifically in metastatic papillary renal-cell carcinoma. PD-1/PD-L1 inhibitors exhibit limited activity in this population. Our findings underline the need for further prospective clinical trials evaluating immune checkpoint inhibitors combinations in these patients.

TABLES

	Overall cohort N = 57	Type 1 N = 16 (28%)	Type 2 N = 34 (60%)	Unclassified N = 7 (12%)
Median Age (range)	65 (19-85)	73 (46-82)	63 (19-75)	57 (37-69)
Gender				
Male	43 (75%)	16	21	6
Karnofsky ≥ 80%	39 (68%)	9	25	5
IMDC score				
Favorable	11 (19%)	5	4	2
Intermediate	22 (39%)	3	16	3
Poor	19 (33%)	6	11	2
Unknown	5	2	3	-
Prior Nephrectomy	51 (90%)	14	31	6
Location of Metastases (more than 1 possible)				
Lung	29 (51%)	10	17	2
Liver	17 (30%)	5	9	3
Bone	14 (25%)	1	11	2
Retropéritoneal LNs	30 (53%)	7	18	5
Mediastinal LNs	26 (46%)	10	14	2
Supraclavicular LNs	5 (9%)	1	4	-
Mesenteric LNs	9 (16%)	3	6	-
Other LNs	6 (10%)	1	5	-
Controlateral Kidney	3 (5%)	2	1	-
Adrenal	8 (14%)	1	6	1
Brain	-	-	-	-
Pancreas	2 (3%)	2	-	-
Spleen	-	-	-	-
Others (subcutaneous, muscle, pleura, omentum)	29 (51%)	7	18	4
Type of Immunotherapy				
Nivolumab	54 (95%)	16	32	6
Atezolizumab	2 (3%)	-	2	-
Avelumab	1 (2%)	-	-	1
Immunotherapy				
Single agent	56 (98%)	16	33	7
Combination with anti-CTLA4	1 (2%)	-	1	-
Line of Immunotherapy				
Immunotherapy in first-line	4 (7%)	1	2	1
Immunotherapy in second-line	32 (56%)	7	21	4
Immunotherapy in third-line	13 (23%)	5	7	1
Immunotherapy beyond third-line	8 (14%)	3	4	1
Toxicity of immunotherapy (Grade 3-4)	6 (10%)	2	4	-

Table 1: Baseline characteristics and immune checkpoint inhibitors treatment.

Abbreviations: IMDC International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium, LNs Lymph Nodes, TKI Tyrosine Kinase inhibitors

	Overall cohort N = 57	Type 1 N = 16 (28%)	Type 2 N = 34 (60%)	Unclassified N = 7 (12%)	p-value
ORR	6 (11%)	2 (14%)	3 (9%)	1 (14%)	0.13
CR	2 (4%)	-	2 (6%)	-	
PR	4 (7%)	2 (14%)	1 (3%)	1 (14%)	
SD	18 (33%)	6 (43%)	8 (23%)	4 (57%)	
PD	31 (56%)	6 (43%)	23 (68%)	2 (29%)	
Unknown	2	2			

Table 2: Immune checkpoint inhibitors response by histological subtypes

FIGURES

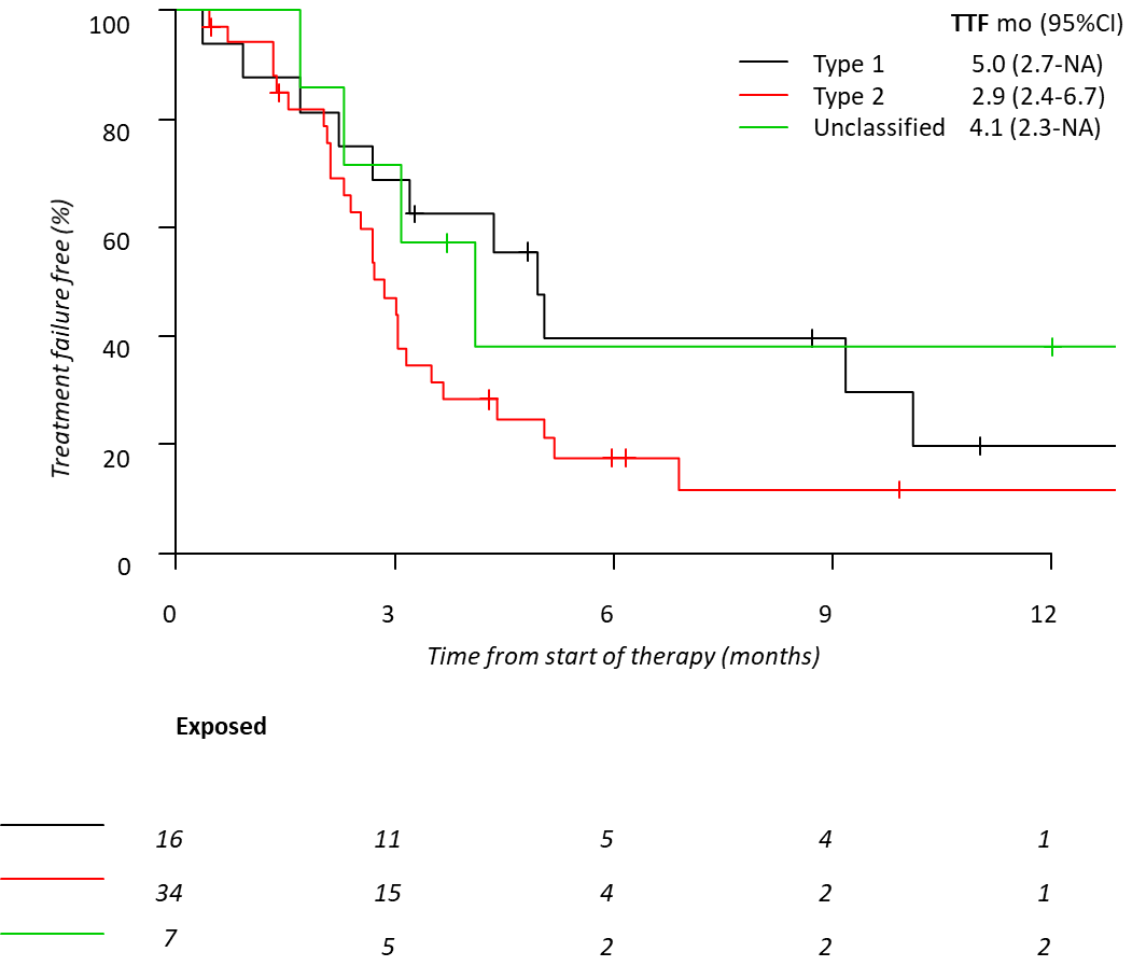


Figure 1: Time to treatment failure (TTF) by histological subtypes

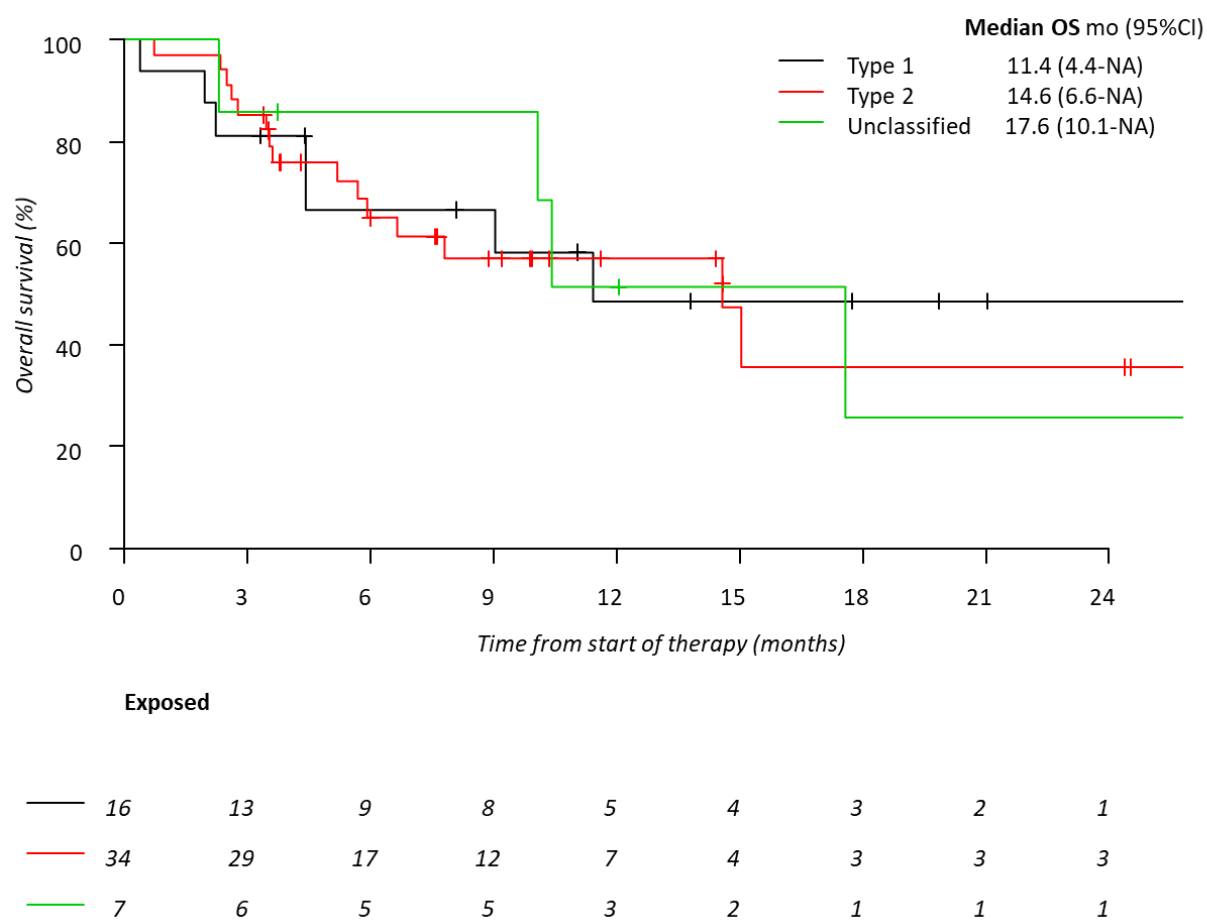


Figure 2: Overall survival (OS) by histological subtypes

PARTIE 2

Are immune checkpoint inhibitors a valid option for papillary Renal Cell Carcinoma? Transcriptomic characterization of the immune infiltrate

M.de Vries-Brilland¹, Elena Menand^{2,3,4}, V.Seegers⁵, J.Dauvé², C.Passot², JM.Marion⁴, P.Chauvet⁴, A.Morel^{2,3}, M.Gross-Goupil⁶, A.Ravaud⁶, E.Boughalem¹, B.Escudier^{7,8}, L.Albigès⁸

¹*Department of Medical Oncology, Integrated Centers of Oncology (ICO) Paul Papin, Angers, France*

²*Integrative Center for Oncology, Clinical biology department, Angers, France*

³*CRCINA, INSERM, Nantes University, Angers University, LabEx IGO, Angers, France*

⁴*LARIS (Laboratoire Angevin de Recherche en Ingénierie des Systèmes), EA-7315, UCO, Angers, France*

⁵*Biostatistics department, Integrated Centers of Oncology (ICO) Paul Papin, Angers, France*

⁶*Department of Medical Oncology, Hôpital Saint-André, University of Bordeaux-CHU, Bordeaux, France*

⁷*U1015 INSERM, Gustave Roussy Cancer Campus, Paris Saclay University, Villejuif, France*

⁸*Medical Oncology, Gustave Roussy, Université Paris-Saclay, Villejuif, France, Villejuif, France*

Abstract soumis à l'ESMO 2019

Manuscrit en cours de préparation

ABSTRACT

Background: Papillary Renal Cell Carcinoma (pRCC) is the most common non-clear cell RCC (nccRCC). Pivotal studies evaluating immune checkpoint inhibitors mostly excluded nccRCC. PD-1/PD-L1 inhibitors exhibit limited activity in metastatic pRCC. The immune microenvironment in pRCC is unknown.

Methods: In silico, we studied the expression of cytotoxic lymphocyte infiltration (CYT), using a descriptive (CIBERSORT) and specific quantitative approach, as well as the expression of inhibitors checkpoint immune markers (ICI), in 258 localized papillary renal cell tumors using RNA-seq data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) as training set. Based on previous report, we selected 8 genes of interest (CD8a, CD8b, GZMA, PRF1, PD1, PDL1, PDL2 and CTLA4). An independent data set of 34 localized pRCC (gene expression) was used as a validation set.

Results: Using a clustering method based on the expression level of 8 predefined genes of interest, we identified 3 groups, differentiated by CYT and ICI expression. In validation cohort, we observed similar clustering. Cluster 3, characterized by a CYT and ICI high expression, was significantly associated with increased population of TCD8, TCD4 helper, M1 macrophages and dendritic cells in CIBERSORT analysis. Additionally, these immune clusters were not associated with indels neo-antigen load but were significantly correlated with the MHC class I antigen presenting machinery expression (APM) ($p=1 \times 10^{-11}$), TIS score ($p=2 \times 10^{-16}$) and interferon-gamma gene expression ($p=1.6 \times 10^{-13}$).

Conclusion: We characterized cytotoxic immune infiltration in pRCC. Cluster 3 could represent the candidate population for PD-1/PD-L1 inhibitors. Transcriptomic immune signature validation in pRCC patients treated with immunotherapy is warranted.

Keywords: papillary renal-cell cancer, tumor immune microenvironment, PD-1/PD-L1 inhibitors, immunogenomics, TCGA

INTRODUCTION

Le carcinome rénal papillaire (pRCC) est le plus fréquent des cancers du rein non à cellules claires (nccRCC) (1) et représente jusqu'à 15% des RCC (2). L'efficacité des traitements par immunothérapie est établie dans les cancers du rein à cellules claires (ccRCC) métastatiques. En effet, dans une étude de phase 3, le traitement par nivolumab, anticorps anti-PD1 (programmed death-1), a démontré une amélioration de la survie globale (OS) (3). De plus, l'association nivolumab et ipilimumab, anticorps anti-CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), a mis en évidence une amélioration du taux de réponse objective (ORR) et de l'OS dans les ccRCC métastatiques de risque intermédiaire et mauvais selon l'IMDC (International Metastatic RCC Database Consortium) (4,5). Cependant, ces études pivots évaluant les inhibiteurs de checkpoint ont exclus les nccRCC. Selon les différentes études rétrospectives disponibles, les traitements par anti-PD-1/PD-L1 présentent une activité limitée dans les pRCC métastatiques (6–8). Il semblerait alors intéressant de pouvoir identifier des "biomarqueurs immunologiques" (1) afin de mieux sélectionner les sous-populations de pRCC potentiellement répondeurs à l'immunothérapie.

Les traitements par inhibiteurs de checkpoint semblent plus efficaces chez les patients présentant une immunité antitumorale préexistante. En effet, l'importance du microenvironnement immunitaire apparaît majeure dans la réponse à l'immunothérapie (9). Selon *Charoentong et al*, l'immunogénicité peut être représentée par l'activité lymphocytaire cytotoxique (10), étant l'ultime mécanisme effecteur de la réponse immunitaire anti-tumorale (11).

Il a été décrit une infiltration lymphocytaire dans les pRCC mais celle-ci semble moindre par rapport aux ccRCC (11). Il semble donc bien que les pRCC puissent présenter une immunogénicité, et donc une réponse à l'immunothérapie, différente de celles des ccRCC.

De plus, l'étude de *Senbabaoglu et al.* a démontré que les tumeurs ccRCC enrichies en cellules T et semblant répondre à l'immunothérapie présentaient également des niveaux d'expression élevés des gènes liés à la réponse immunitaire, y compris les gènes des points de contrôle immunitaire : PD-1, PD-L1 et CTLA-4 (12), cibles des inhibiteurs de checkpoint.

A notre connaissance, il n'existe pas d'analyse descriptive de l'infiltration lymphocytaire cytotoxique dans les pRCC. Il pourrait alors être intéressant d'explorer le microenvironnement immunitaire via les données de RNA-seq (13) et ainsi réaliser des explorations quantitatives de l'expression génique de l'infiltration lymphocytaire, notamment cytotoxique (14), associées à l'expression génique des points de contrôle immunitaire dans ce type de tumeurs.

L'objectif de ce travail est d'utiliser une approche bio-informatique reposant sur l'analyse d'expression génique pour établir le profil des niveaux d'infiltration des populations de cellules immunitaires spécifiquement dans les pRCC.

METHODES

Toutes les analyses ont été réalisées *in silico* dans le logiciel R version 3.5.3.

Collection des données

Les données RNA-seq de carcinomes rénaux papillaires (KIRP) ont été téléchargées en décembre 2018 à partir du portail de The Cancer Genome Atlas (TCGA) (<https://gdc.cancer.gov/>). La quantification d'expression génique a été effectuée selon l'annotation du génome de référence GRCh38, Ensembl version 80 de mai 2015 (package BiomaRt). Les données en HTSeq-counts ont été converties et normalisées en transcrits par million (TPM). L'expression génique a été définie selon $\log_2(\text{TPM} + 1)$. Les données cliniques ont été extraites à partir de l'étude de Ricketts et al. (15). Les données clinico-pathologiques des patients sont décrites dans le **Tableau 1**.

Pour réaliser une cohorte de validation indépendante, des données transcriptomiques type micro-array normalisées ont été obtenues pour 34 patients atteints de pRCC issus de la cohorte GSE2748 à partir de Gene-Expression Omnibus (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) (16).

Construction de « clusters immunitaires descriptifs »

A partir des données disponibles dans la littérature, 8 gènes d'intérêts ont été retenus comme marqueurs des processus biologiques d'intérêt suivants. Nous avons sélectionné 4 marqueurs de l'infiltration immunitaire cytotoxique (CYT) : CD8b, CD8a, GZMA, PRF1. En effet, CD8b est spécifique des lymphocytes T (LT) CD8+, acteurs essentiels de la réponse immunitaire ; CD8a est également exprimé par les LT CD8+, est référencé dans de nombreuses études de l'infiltration lymphocytaire et son équivalence d'expression ARN et expression protéique est établie (17); PRF1 et GZMA correspondent à deux acteurs clés de l'activité cytotoxique (codant pour les protéines perforine/granzyme A), reflétant une infiltration lymphocytaire activée (10). Afin d'étudier l'interaction potentielle avec les inhibiteurs de checkpoint, nous avons sélectionné 4 marqueurs correspondant aux molécules des points de contrôle immunitaire (ICI) : PD-1, PD-L1, CTLA-4 et PD-L2 (11,18–21).

Afin d'identifier des groupes de patients homogènes pour l'expression de ces 8 marqueurs, nous avons réalisé une analyse en composantes principales puis une classification ascendante hiérarchique non supervisée nous conduisant à différents clusters (fonction HCPC). Ces analyses ont été réalisées à l'aide des packages FactoMineR, Factoextra.

Analyses de différentes signatures immunitaires à partir du microenvironnement tumoral

Le microenvironnement tumoral a été décrit entre les clusters de patients, identifiés à l'étape précédente, à partir des données issues de CIBERSORT de l'étude de Thorsson et al (22). Cet algorithme de déconvolution est un modèle prédictif caractérisant des infiltrats immunitaires à partir de profils d'expression génique (23). Nous avons alors obtenu une vue d'ensemble sur le paysage immunitaire de notre cohorte pRCC.

Afin d'étudier le potentiel immunogène des pRCC, nous nous sommes appuyés sur différents biomarqueurs démontrés comme prédictifs de réponse à l'immunothérapie dans les ccRCC. D'une part, du fait que les lymphocytes T CD8+ soient activés par les antigènes peptidiques présentés par les molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (24), la signature APM (Antigen Presenting Machinery expression) apparaît intéressante. Celle-ci résulte de l'expression de 7 gènes : gènes du CMH de classe I (HLA-A/B/C, B2M) et gènes impliqués dans la présentation des antigènes (TAP1, TAP2, and TAPBP) (24). Cette signature s'avère corrélée aux macrophages et aux cellules dendritiques, cellules présentatrices d'antigènes. Ces 7 gènes sont uprégulés par la sécrétion d'interféron-gamma (IFNG), lui-même sécrété par les lymphocytes T CD8+ activés (12). D'autre part, le score TIS (T cell Infiltration Score), validé également dans l'étude de *Senbabaoglu et al.* à partir de plusieurs cohortes indépendantes, a été décrit comme un score calculé à partir de la valeur moyenne de différentes populations de lymphocytes T (TCD8, Thelper, T central, T effecteur mémoires, Th1, Th2, Th17, lymphocytes T régulateurs (Treg)) (12). Il a été démontré que ces 2 scores étaient significativement augmentés dans les clusters enrichis en lymphocytes T dans les tumeurs ccRCC. De plus, il a été constaté que les scores APM et TIS étaient élevés chez les patients atteints d'un ccRCC métastatique qui présentaient une réponse complète ou partielle au nivolumab, alors qu'ils se situaient dans le quartile inférieur chez les patients traités par nivolumab en progression (12). Nous avons obtenu les valeurs de la signature APM et du score TIS pour notre cohorte issue du TCGA à partir de l'étude de *Senbabaoglu et al* (12). Enfin, nous nous sommes intéressés aux mutations de décalage du cadre de lecture appelées « frameshift indels mutations » (ou « indels »), décrites comme significativement associées à la réponse aux anti-PD1 dans les ccRCC (25). Nous avons généré ces données par le package Maftools à partir du portail du TCGA.

Analyses statistiques

Pour décrire les différents paramètres cliniques selon les clusters, nous avons réalisé des tests exacts de Fischer. Pour comparer l'expression des différents gènes étudiés entre chaque cluster, nous avons réalisé des tests paramétriques (test Anova) et non paramétriques (test de Kruskal-Wallis) selon l'effectif dans chaque sous-groupe. Les valeurs de p ont été ajustées pour les tests d'hypothèses multiples à l'aide de la fonction R `p.adjust` avec l'option Benjamini-Hochberg («BH»). Les tests de corrélation ont été réalisés selon la méthode de Spearman. Une valeur de $p < 0.05$ était considérée comme statistiquement significative. Les différents boxplots ont été réalisés à l'aide du package `ggplot2`.

RESULTATS

Cohorte de patients pRCC

A partir du TCGA, nous avons analysé les données transcriptomiques de 289 patients, complétées par les données cliniques de 272 patients et les données des « indels » de 276 patients. Après avoir éliminé 2 valeurs aberrantes (outliers), nous avons réalisé notre étude sur une cohorte de 258 pRCC communs à ces différentes bases de données (**Figure 1**).

Approche de clustering

L'analyse en composantes principales nous a conduits à sélectionner 3 dimensions permettant d'expliquer plus de 85% de la variance. Le clustering non supervisé des 258 tumeurs pRCC utilisant les niveaux d'expression des nos 8 gènes d'intérêts représentatifs de l'infiltrat immunitaire a révélé trois groupes de tumeurs infiltrées de manière différentielle : le cluster 1 avec 135 patients (52,3%), le cluster 2 avec 99 patients (38,4%) et le cluster 3 avec 24 patients (9,3%) (**Figure 2**). Il a été retrouvé une association significative entre les types histologiques et les clusters (test exact de Fischer $p=9.10^{-3}$), avec des pRCC de type 1 qui étaient répartis préférentiellement dans les clusters 1 et 2, alors que le cluster 3 était majoritairement composé de pRCC de type 2 (**Figure 3**). Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les clusters et le sexe ou le stade TNM (Test exact de Fischer $p > 0.05$).

Expression de l'infiltration immunitaire cytotoxique et des marqueurs des inhibiteurs de checkpoints

Nous avons retrouvé une expression des 4 gènes représentant CYT significativement croissante entre les clusters ($p=2,2.10^{-16}$ pour chaque marqueur) (**Figure 4A**). Concernant les marqueurs des inhibiteurs de checkpoint, leurs expressions apparaissaient également significativement croissantes ($p=2,2.10^{-16}$ pour CTLA4, PD-1, PD-L2 et $p=1,07.10^{-8}$ pour PD-L1), en dehors de l'expression de PD-L1 qui n'était pas significativement différente entre le cluster 2 et 3 ($p=0,07$) (**Figure 4B**). Ces résultats mettent en évidence que le cluster 3, plus infiltré en CYT, est aussi celui plus infiltré en ICI, représentant potentiellement un microenvironnement immunosuppresseur, cible des inhibiteurs de checkpoint.

Lorsque nous avons étudié les différentes populations immunitaires via les données de CIBERSORT issues de *Thorsson et al*, nous avons pu également confirmer que le cluster 3 était significativement plus riche en TCD8 ($p=6,3.10^{-12}$) mais aussi en T helper ($p=1,1.10^{-3}$), en macrophages M1 ($p=1,6.10^{-5}$) et en cellules dendritiques ($p=2,8.10^{-4}$) (**Figure 5**). Afin de déterminer les différentes parts entre un microenvironnement pro ou anti tumoral, nous avons regardé plusieurs populations immunitaires. Tout d'abord, le ratio macrophages M1/M2 était significativement plus important dans le cluster 3 ($p=2,8.10^{-5}$) (**Figure 6A**). Alors que l'expression génique de Foxp3 (lymphocytes T régulateurs) était significativement croissante entre les clusters ($p=4,6.10^{-14}$) (**Figure 6B**), le ratio Treg/TCD8 apparaissait non significativement différent entre les clusters 2 et 3 ($p=0,98$) (**Figure 6C**).

La signature APM, le score TIS et l'expression d'IFNG sont corrélés avec les « clusters immunitaires descriptifs »

La signature APM et le score TIS, obtenus pour notre cohorte à partir de l'étude de *Senbabaoglu et al.* (12), ainsi que l'expression de l'IFNG, sont décrits comme pronostiques et prédictifs de réponse à l'immunothérapie dans les ccRCC.

L'expression de la signature APM était significativement croissante entre les clusters ($p=2,9.10^{-10}$), avec une expression plus importante dans le cluster 3 (**Figure 7A**). Nous avons retrouvé une corrélation significative entre les clusters et la signature APM (Spearman $r=0,4$ $p=1,10^{-11}$).

De même, pour le score TIS, nous avons observé une forte corrélation avec les clusters (Spearman $r=0,6$ $p=2,2.10^{-16}$), avec une expression significativement croissante ($p=2,2.10^{-16}$) (**Figure 7B**).

Quant à l'expression d'IFNG, nous avons retrouvé une différence significativement croissante entre chaque cluster ($p=1,6.10^{-13}$). Cela représente une nette activité cytotoxique dans le cluster 3 (**Figure 7C**).

Les mutations type "indels" ne sont pas corrélées avec les « clusters immunitaires descriptifs »

Nous avons pu obtenir les « frameshift indels mutations » à partir du package Maftools appliqué aux données disponibles du TCGA. Nous n'avons pas retrouvé de différence significative en termes d'enrichissement en indels entre les clusters ($p=0,17$) (**Figure 8A**), avec une absence de corrélation (Spearman $r=-0,08$ $p=0,19$). Nous nous sommes alors concentrés sur les néoantigènes issus des indels, connus pour être théoriquement plus immunogènes, disponibles à partir de l'étude de *Thorsson et al* (22). Nous avons pu constater que les néoantigènes issus des indels semblaient plus importants dans le cluster 3 mais la différence n'apparaissait pas statistiquement significative ($p=0,3$) (**Figure 8B**).

Clustering dans la cohorte de validation

Sur une cohorte indépendante de 34 pRCC avec des données transcriptomiques type micro-array, nous avons appliqué la même méthode de clustering reposant sur nos 8 gènes d'intérêts. Nous avons obtenu un profil d'infiltration immunitaire similaire, avec également 52% des pRCC dans le cluster 1, 38% dans le cluster 2 et 10% dans le cluster 3. Ce dernier apparaissait significativement plus infiltré en CD8a ($p=2,6.10^{-5}$), GZMA ($p=2,1.10^{-3}$), PRF1 ($p=0,01$), CTLA-4 ($p=2,10^{-3}$), PD-L2 ($p=0,01$) (**Figure 9A**). De manière indépendante, l'expression d'IFNG apparaissait également significativement plus importante dans le cluster 3 ($p=3,7.10^{-3}$) (**Figure 9B**).

DISCUSSION

Les traitements par inhibiteurs de checkpoint ont une activité limitée dans les pRCC avec un taux de réponse objective retrouvé aux alentours de 11% (6), soulignant la nécessité d'identifier des biomarqueurs prédictifs pour pouvoir mieux cibler les patients potentiellement répondeurs à l'immunothérapie. A notre connaissance, notre étude est la première à décrire différents sous-groupes de pRCC, déterminés selon l'expression génique de l'infiltration lymphocytaire cytotoxique et des marqueurs des points de contrôle immunitaire. Le cluster 3, déterminé comme le plus enrichi en CYT et ICI, pourrait correspondre aux pré-requis nécessaires à une réponse à l'immunothérapie. En effet, l'étude de *De Velasco et al*, suggère que les données génomiques pourraient être utiles pour expliquer le bénéfice clinique de l'immunothérapie dans les ccRCC métastatiques. Bien que les résultats ne soient pas significatifs en raison du faible nombre de patients étudiés, ils ont pu mettre en évidence que l'expression des gènes CTLA4, PD-1, PD-L1, PD-L2, GZMA, PRF1 et CD8A, était significativement plus élevée chez les répondeurs au nivolumab (20).

Au-delà du fait que le cluster 3, par définition, est plus enrichi en infiltration lymphocytaire cytotoxique, il s'avérerait être également celui le plus enrichi en macrophages M1. En effet, le ratio macrophages M1/M2 significativement plus important dans le cluster 3 suggère une infiltration de M1, anti tumorale, bien plus importante qu'une infiltration pro tumorale par les M2 (26). De même, le ratio Treg/TCD8 était similaire entre le cluster 2 et 3, suggérant que le microenvironnement immunosuppresseur présent dans le cluster 3 est contrebalancé par une infiltration anti tumorale importante (27).

Dans l'étude de *De Velasco et al.* (20), contrairement aux résultats d'autres types de tumeurs, les répondeurs à l'immunothérapie ne présentaient pas davantage de tumeurs mutées dans les ccRCC. Ces résultats apparaissent similaires aux nôtres. En effet, nous ne retrouvons pas de corrélation entre le taux de mutations à types d'indels et l'infiltration immunitaire cytotoxique. Pourtant, *Turajlic et al.* met en évidence que les « frameshift indels mutations » dans les ccRCC apparaissent comme potentiels biomarqueurs prédictifs de réponse à l'immunothérapie (25). Même si le taux d'indels semble plus important dans le cluster 3, la différence était non significative. Ce résultat pourrait s'expliquer par le faible effectif de ce cluster. Cependant, l'enrichissement en antigènes immunogènes n'expliquerait pas la présence ou l'absence d'infiltration immunitaire, apparaissant alors comme deux entités potentiellement indépendantes (28–31).

Notre étude présente certaines limites. La majorité des patients de notre cohorte issue du TCGA présente une maladie localisée. Or la réponse aux traitements par inhibiteurs de checkpoint dans les pRCC a été étudiée chez des patients métastatiques. L'étude de *Baine et al.* décrit une infiltration immunitaire, notamment en CD8, plus importante dans le tissu primitif que le tissu métastatique dans les ccRCC (32). Il serait intéressant de pouvoir étudier la composition de nos clusters chez des patients atteints de pRCC métastatiques.

De plus, nous n'avons pas de données disponibles de réponses à l'immunothérapie. Nous avons pu mettre en évidence une corrélation significative entre nos clusters et différents biomarqueurs prédictifs, tant avec la signature APM, que l'expression d'IFNG, que le score TIS. Notre cohorte de validation, indépendante du TCGA, nous a permis de mettre en avant que malgré des données de micro-arrays et non de RNA-seq, nous avons pu retrouver sensiblement les mêmes clusters, et dans

les mêmes proportions, dans lesquels l'expression de l'IFNG était retrouvée également similaire. Cependant, il semble nécessaire de pouvoir corréler nos clusters à des données de réponses à l'immunothérapie pour émettre l'hypothèse de leur valeur prédictive, dans l'idéal en prospectif.

Enfin, à l'ère des traitements combinés par immunothérapie associée aux inhibiteurs des tyrosine-kinases, nous pourrions émettre l'hypothèse que nos « clusters immunitaires descriptifs » pourraient aider à la stratégie thérapeutique. En effet, devant une tumeur dite immunologiquement « froide », soit pouvant correspondre au cluster 1, un traitement combiné pourrait s'avérer plus intéressant (33). Tandis qu'une tumeur très infiltrée serait plus susceptible de répondre à l'immunothérapie seule. Cependant il semblerait également intéressant et complémentaire d'étudier la signature d'expression de gènes de l'angiogenèse. En effet, lorsqu'elle est élevée, les patients atteints d'un ccRCC traités par sunitinib seul semblent avoir une meilleure PFS. Alors que lorsqu'elle est basse, un traitement combiné par avelumab et axitinib semble préférable (34).

En conclusion, pour la première fois à ce jour, nous avons caractérisé l'infiltration immunitaire cytotoxique dans les pRCC. Le cluster 3 pourrait correspondre à une population de répondeurs à l'immunothérapie. La validation de cette potentielle signature immunitaire transcriptomique chez les patients atteints de pRCC traités par immunothérapie est justifiée.

BIBLIOGRAPHIE

1. Lopez-Beltran A, Henriques V, Cimadamore A, Santoni M, Cheng L, Gevaert T, et al. The Identification of Immunological Biomarkers in Kidney Cancers. *Front Oncol.* 2018;8:456.
2. Cancer Genome Atlas Research Network, Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, Creighton CJ, Fei SS, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 14 janv 2016;374(2):135-45.
3. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 5 nov 2015;373(19):1803-13.
4. Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Arén Frontera O, Melichar B, Choueiri TK, et al. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* [Internet]. 21 mars 2018 [cité 26 mars 2018]; Disponible sur: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1712126>
5. Ko JJ, Xie W, Kroeger N, Lee J, Rini BI, Knox JJ, et al. The International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium model as a prognostic tool in patients with metastatic renal cell carcinoma previously treated with first-line targeted therapy: a population-based study. *Lancet Oncol.* mars 2015;16(3):293-300.
6. Koshkin VS, Barata PC, Zhang T, George DJ, Atkins MB, Kelly WJ, et al. Clinical activity of nivolumab in patients with non-clear cell renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer* [Internet]. déc 2018 [cité 24 mars 2018];6(1). Disponible sur: <https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-018-0319-9>
7. McKay RR, Bossé D, Xie W, Wankowicz SAM, Flaifel A, Brandao R, et al. The Clinical Activity of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Metastatic Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res.* juill 2018;6(7):758-65.
8. de Vries-Brilland M, Gross-Goupil M, Seegers V, Boughalem E, Beuselinck B, Thibault C, et al. Are immune checkpoint inhibitors (ICI) a valid option for papillary renal cell carcinoma (pRCC)? A multicenter retrospective study.
9. Choueiri TK, Fishman MN, Escudier B, McDermott DF, Drake CG, Kluger H, et al. Immunomodulatory Activity of Nivolumab in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 15 nov 2016;22(22):5461-71.
10. Rooney MS, Shukla SA, Wu CJ, Getz G, Hacohen N. Molecular and Genetic Properties of Tumors Associated with Local Immune Cytolytic Activity. *Cell.* janv 2015;160(1-2):48-61.
11. Charoentong P, Finotello F, Angelova M, Mayer C, Efremova M, Rieder D, et al. Pan-cancer Immunogenomic Analyses Reveal Genotype-Immunophenotype Relationships and Predictors of Response to Checkpoint Blockade. *Cell Rep.* 3 janv 2017;18(1):248-62.
12. Şenbabaoğlu Y, Gejman RS, Winer AG, Liu M, Van Allen EM, de Velasco G, et al. Tumor immune microenvironment characterization in clear cell renal cell carcinoma identifies prognostic and immunotherapeutically relevant messenger RNA signatures. *Genome Biol.* 17 2016;17(1):231.

13. Butler SN, Blanck G. Immunoscoring by correlating MHC class II and TCR expression: high level immune functions represented by the KIRP dataset of TCGA. *Cell Tissue Res.* févr 2016;363(2):491-6.
14. Petitprez F, Sun C-M, Lacroix L, Sautès-Fridman C, de Reyniès A, Fridman WH. Quantitative Analyses of the Tumor Microenvironment Composition and Orientation in the Era of Precision Medicine. *Front Oncol.* 2018;8:390.
15. Ricketts CJ, De Cubas AA, Fan H, Smith CC, Lang M, Reznik E, et al. The Cancer Genome Atlas Comprehensive Molecular Characterization of Renal Cell Carcinoma. *Cell Rep.* 3 avr 2018;23(1):313-326.e5.
16. Yang XJ, Tan M-H, Kim HL, Ditlev JA, Betten MW, Png CE, et al. A molecular classification of papillary renal cell carcinoma. *Cancer Res.* 1 juill 2005;65(13):5628-37.
17. Brown SD, Warren RL, Gibb EA, Martin SD, Spinelli JJ, Nelson BH, et al. Neo-antigens predicted by tumor genome meta-analysis correlate with increased patient survival. *Genome Res.* 1 mai 2014;24(5):743-50.
18. Choueiri TK, Fay AP, Gray KP, Callea M, Ho TH, Albiges L, et al. PD-L1 expression in nonclear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol.* 1 nov 2014;25(11):2178-84.
19. Motoshima T, Komohara Y, Ma C, Dewi AK, Noguchi H, Yamada S, et al. PD-L1 expression in papillary renal cell carcinoma. *BMC Urol.* 13 janv 2017;17(1):8.
20. de Velasco G, Miao D, Shukla S. Integrated genomic correlates of response to PD-1 inhibitor nivolumab in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol.* 2016;J Clin Oncol. (2016) 34(Suppl. 2):545 10.1200/jco.2016.34.2_suppl.545.
21. Zhu J, Armstrong AJ, Friedlander TW, Kim W, Pal SK, George DJ, et al. Biomarkers of immunotherapy in urothelial and renal cell carcinoma: PD-L1, tumor mutational burden, and beyond. *J Immunother Cancer.* 25 janv 2018;6(1):4.
22. Thorsson V, Gibbs DL, Brown SD, Wolf D, Bortone DS, Ou Yang T-H, et al. The Immune Landscape of Cancer. *Immunity.* 17 2018;48(4):812-830.e14.
23. Newman AM, Liu CL, Green MR, Gentles AJ, Feng W, Xu Y, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles. *Nat Methods.* mai 2015;12(5):453-7.
24. Neefjes J, Jongsma MLM, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol.* 11 nov 2011;11(12):823-36.
25. Turajlic S, Litchfield K, Xu H, Rosenthal R, McGranahan N, Reading JL, et al. Insertion-and-deletion-derived tumour-specific neoantigens and the immunogenic phenotype: a pan-cancer analysis. *Lancet Oncol.* 2017;18(8):1009-21.
26. Burmeister T, Ebert AD, Pritze W, Loddenkemper C, Schwartz S, Thiel E. Insertional polymorphisms of endogenous HERV-K113 and HERV-K115 retroviruses in breast cancer patients and age-matched controls. *AIDS Res Hum Retroviruses.* nov 2004;20(11):1223-9.
27. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* févr 2015;26(2):259-71.

28. Braun DA, Burke KP, Van Allen EM. Genomic Approaches to Understanding Response and Resistance to Immunotherapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 déc 2016;22(23):5642-50.
29. Danaher P, Warren S, Lu R, Samayoa J, Sullivan A, Pekker I, et al. Pan-cancer adaptive immune resistance as defined by the Tumor Inflammation Signature (TIS): results from The Cancer Genome Atlas (TCGA). *J Immunother Cancer* [Internet]. déc 2018 [cité 18 mars 2019];6(1). Disponible sur: <https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-018-0367-1>
30. Keenan TE, Burke KP, Van Allen EM. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade. *Nat Med*. mars 2019;25(3):389-402.
31. Spranger S, Luke JJ, Bao R, Zha Y, Hernandez KM, Li Y, et al. Density of immunogenic antigens does not explain the presence or absence of the T-cell-inflamed tumor microenvironment in melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 29 2016;113(48):E7759-68.
32. Baine MK, Turcu G, Zito CR, Adeniran AJ, Camp RL, Chen L, et al. Characterization of tumor infiltrating lymphocytes in paired primary and metastatic renal cell carcinoma specimens. *Oncotarget*. 22 sept 2015;6(28):24990-5002.
33. Popovic A, Jaffee EM, Zaidi N. Emerging strategies for combination checkpoint modulators in cancer immunotherapy. *J Clin Invest*. 1 août 2018;128(8):3209-18.
34. Choueiri TK. Biomarker analyses from JAVELIN Renal 101: Avelumab + axitinib (A+Ax) versus sunitinib (S) in advanced renal cell carcinoma (aRCC).

TABLEAU ET FIGURES

KIRP cohort (n=258)	n	%
Demographical data		
Female/male	64/194	25/75
Mean age (years)	61 ± 11.8	-
Histological subtype		
Type 1	153	59
Type 2	71	28
Unclassified	34	13
Stage		
I	159	62
II	20	8
III	43	17
IV	15	6
Not available	21	8
TNM status		
T1	175	68
T2	28	11
T3	51	20
T4	2	1
Tx	2	1
N0	43	17
N1	22	9
N2	3	1
NX	190	74
M0	183	71
M1	11	4
MX	64	25
Outcome		
Survival	222	86
Median survival (days)	729	-
Death	36	14

Tableau 1 : Caractéristiques clinico-pathologiques de la cohorte de 258 patients atteints d'un pRCC, issus du TCGA.

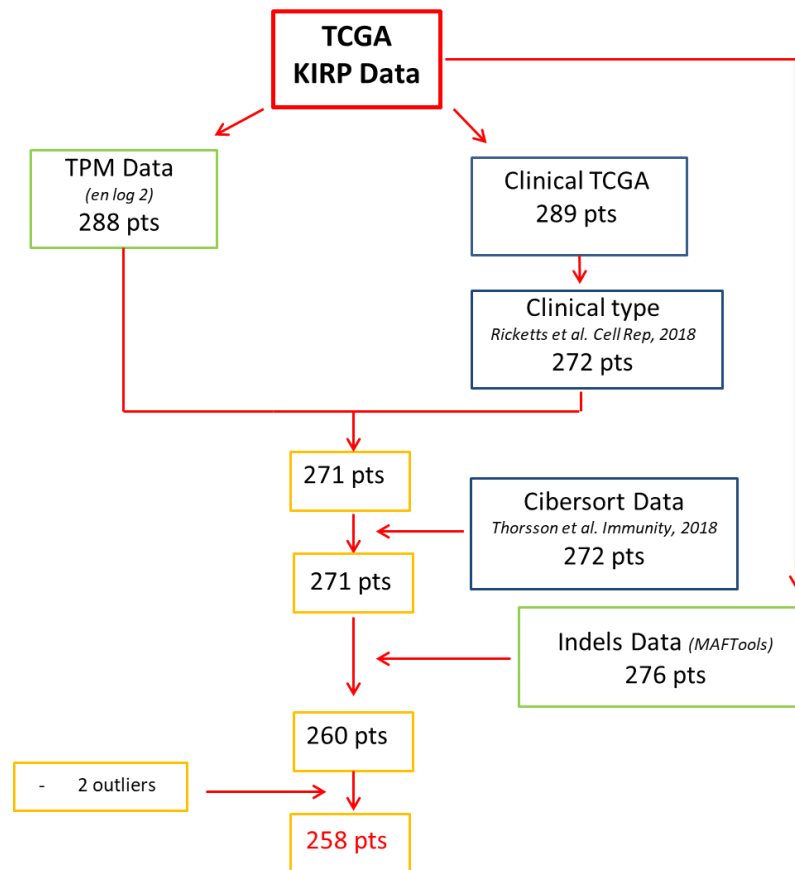


Figure 1 : Flow chart de la cohorte pRCC. Les données transcriptomiques, normalisées et converties en transcrits par million (TPM) et en log2, ainsi que les données concernant les mutations types « indels » sont directement issues du portail du TCGA (encadré vert). Les données cliniques et de Cibersort sont issues de 2 études différentes (encadré bleu). Nous obtenons alors 260 patients avec des données communes issues de ces différentes bases de données. (pts = patients)

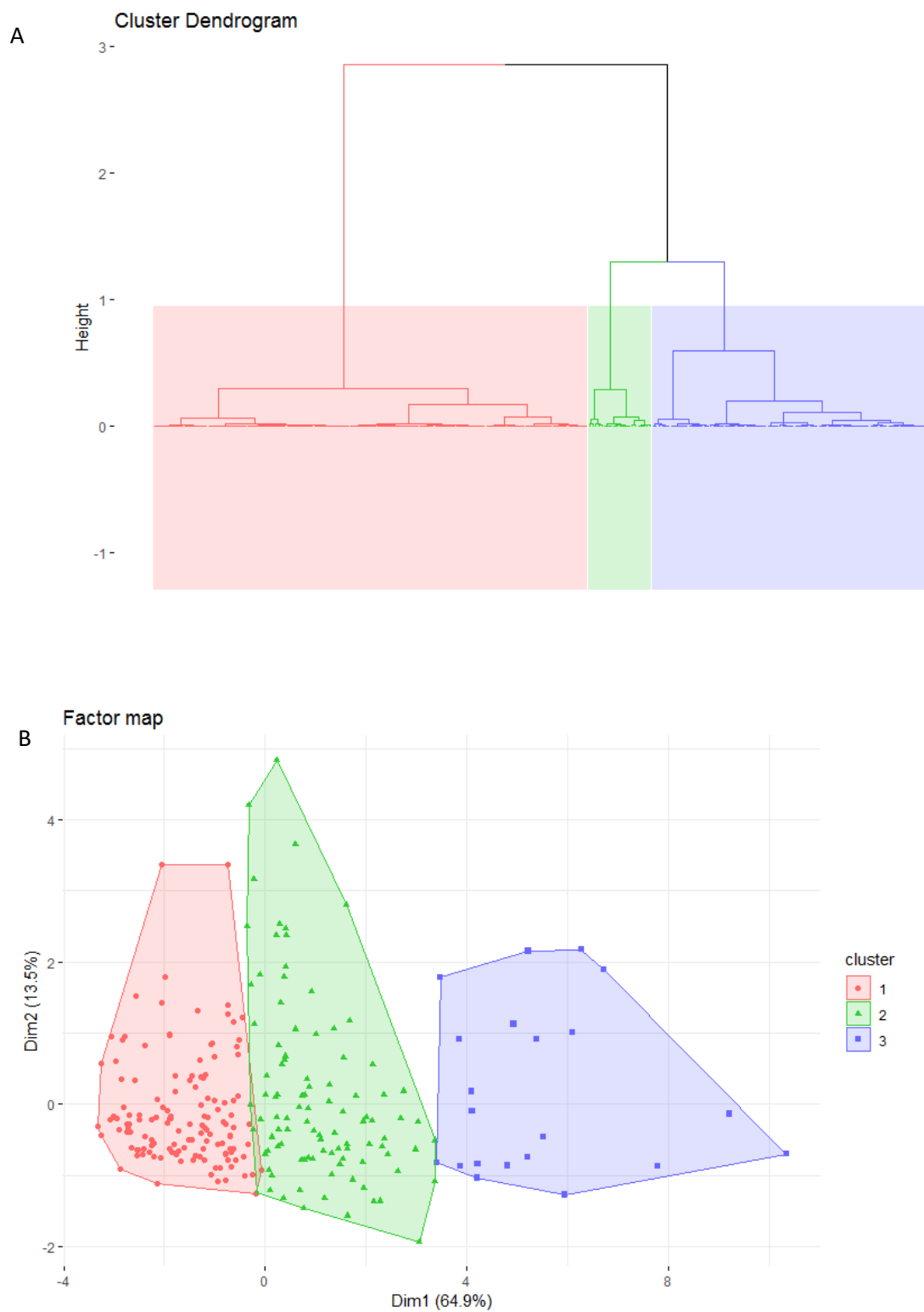


Figure 2 : Répartition des pRCC selon les clusters issus de l'analyse en composantes principales.
 (A) Dendrogramme (B) Factor map. Cluster 1 = 135pRCC. Cluster 2 = 99 pRCC. Cluster 3 = 24 pRCC.

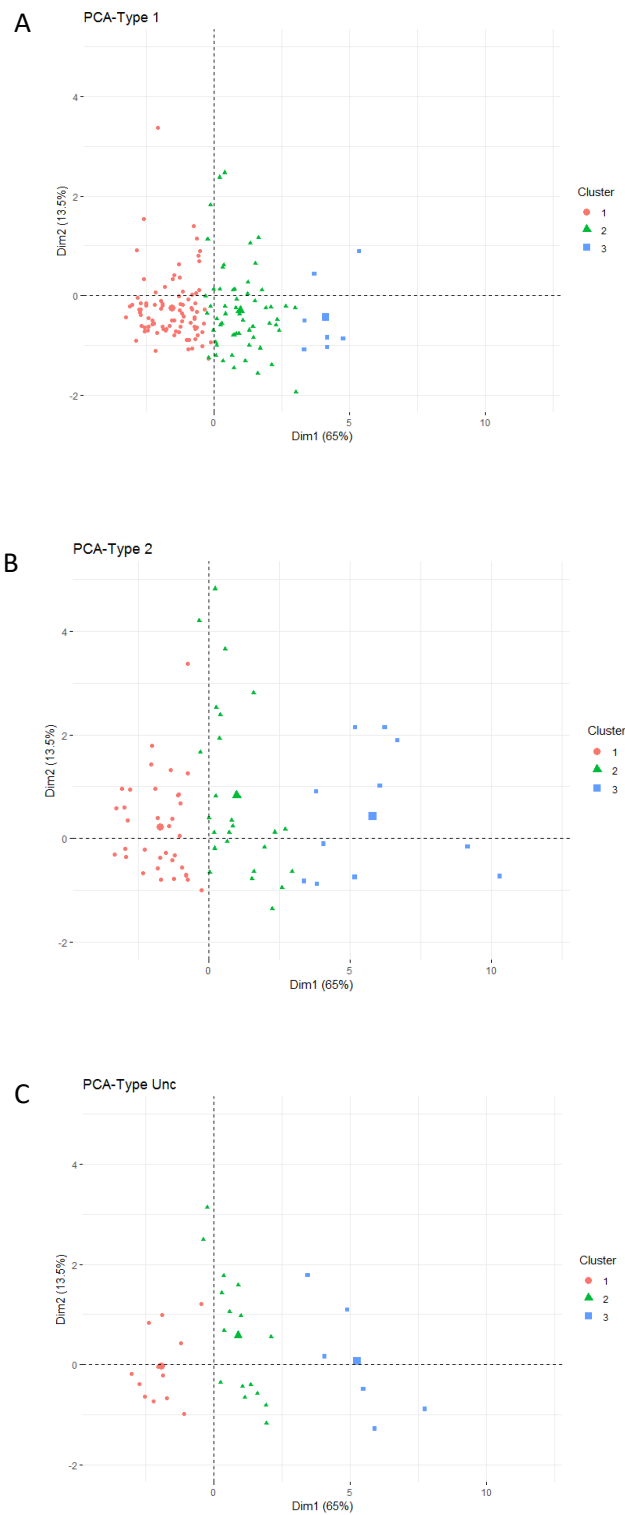


Figure 3 : Répartition des types histologiques selon les clusters. Factor map des clusters issus de l'analyse en composantes principales en fonction des pRCC de type 1 (A), de type 2 (B) et de type non classables (Unc) (C).

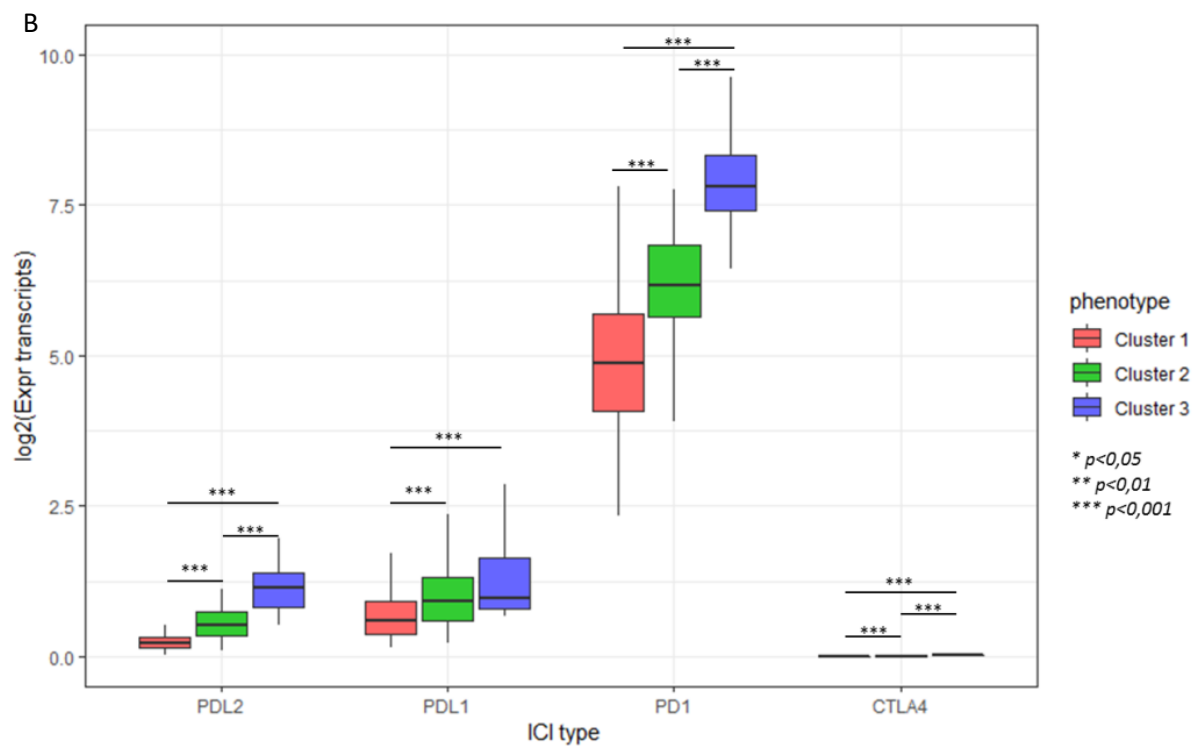
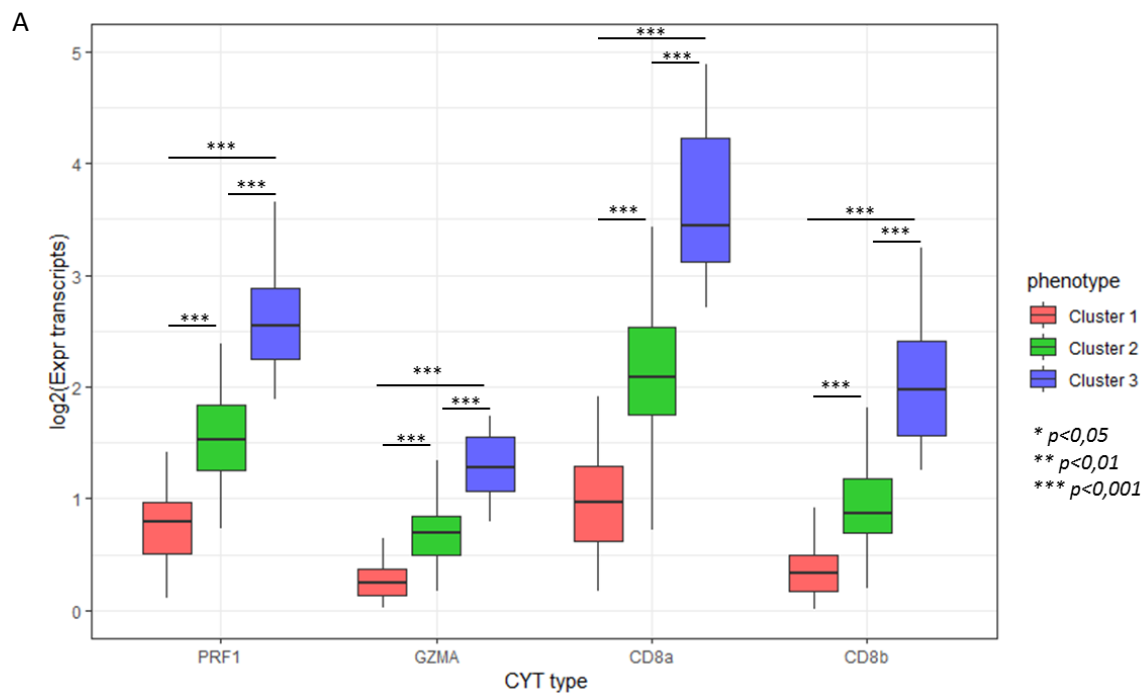


Figure 4 : Comparaison de l'infiltration lymphocytaire cytotoxique (A) et des marqueurs des inhibiteurs de checkpoints (B) entre chaque cluster. Boxplots représentant la médiane et l'écart-interquartile. Tests de Kruskal-wallis et comparaisons multiples (Benjamin-Hochberg).

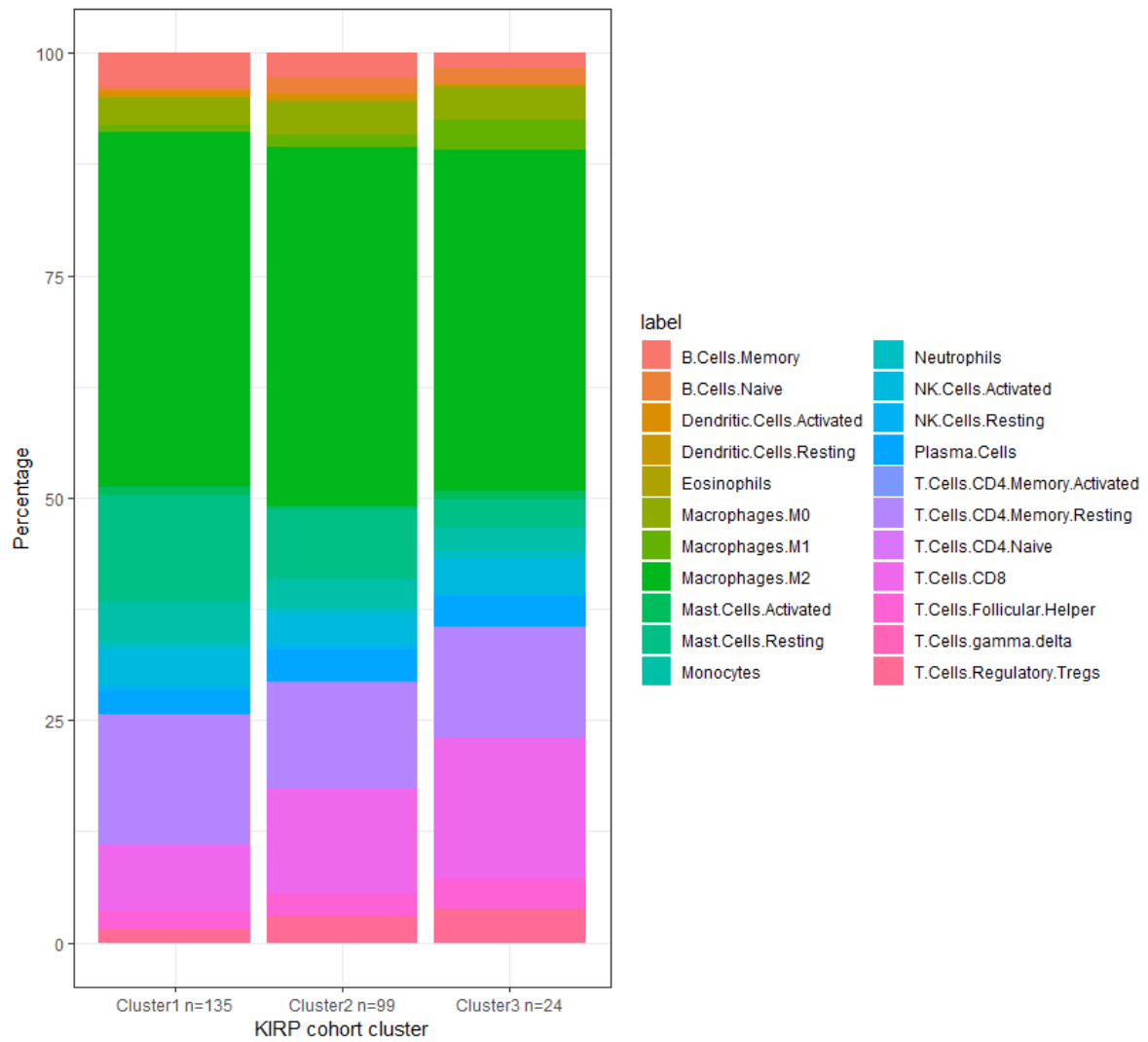


Figure 5 : Répartition (en pourcentages) des cellules immunitaires infiltrant les pRCC, selon la méthode CIBERSORT, dans chaque cluster. Le cluster 3 était significativement plus riche en TCD8 ($p=6,3.10^{-12}$), en T helper ($p=1,1.10^{-3}$), en macrophages M1 ($p=1,6.10^{-5}$) et en cellules dendritiques au repos ($p=2,8.10^{-4}$).

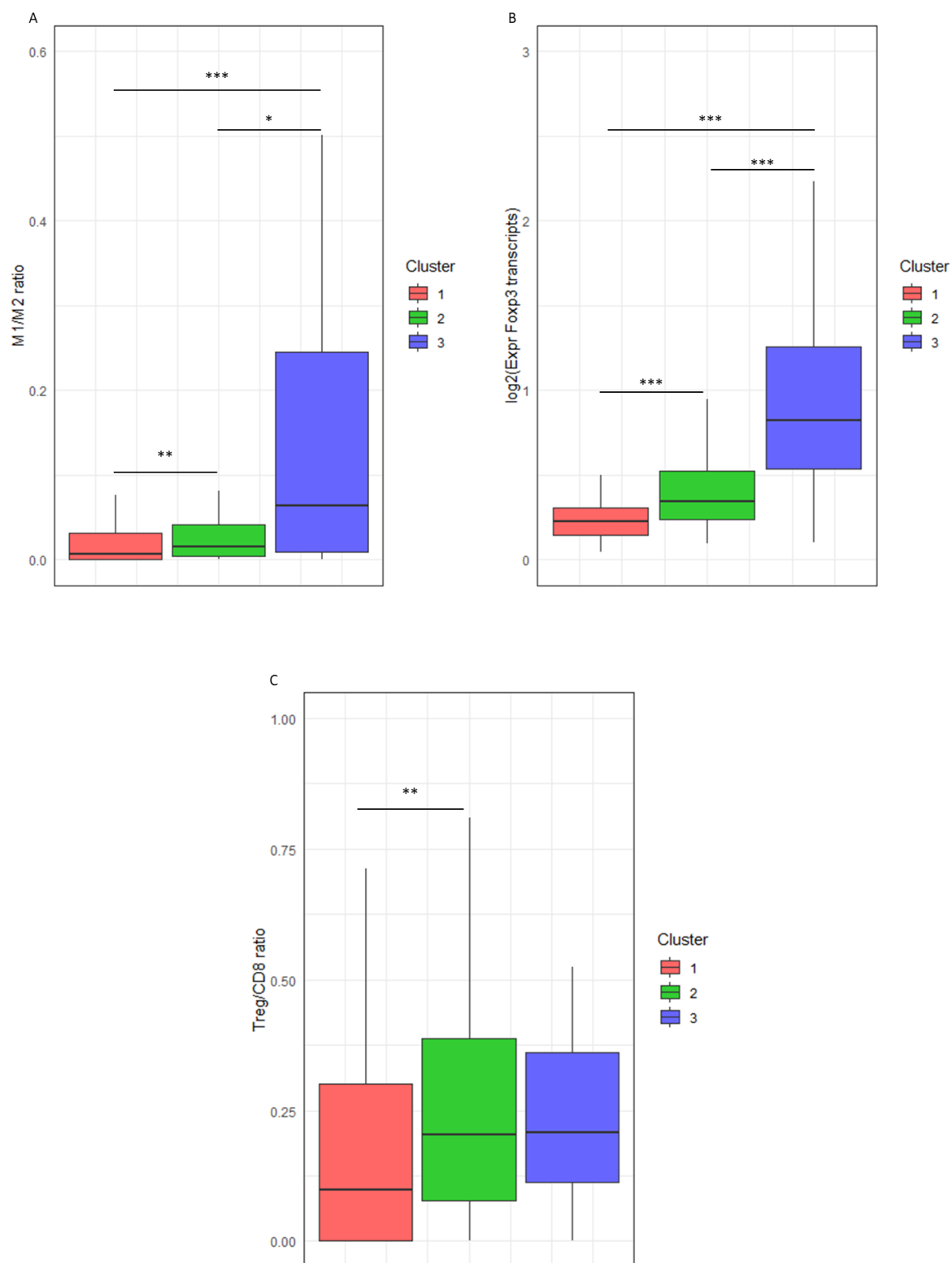


Figure 6 : Comparaison du ratio M1/M2 issu des données de CIBERSORT (A), de l'expression génique de Foxp3 (B), du ratio Treg/CD8 issu des données de CIBERSORT (C) entre chaque cluster. Boxplots représentant la médiane et l'écart-interquartile. Tests de Kruskal-wallis et comparaisons multiples (Benjamin-Hochberg): *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001.

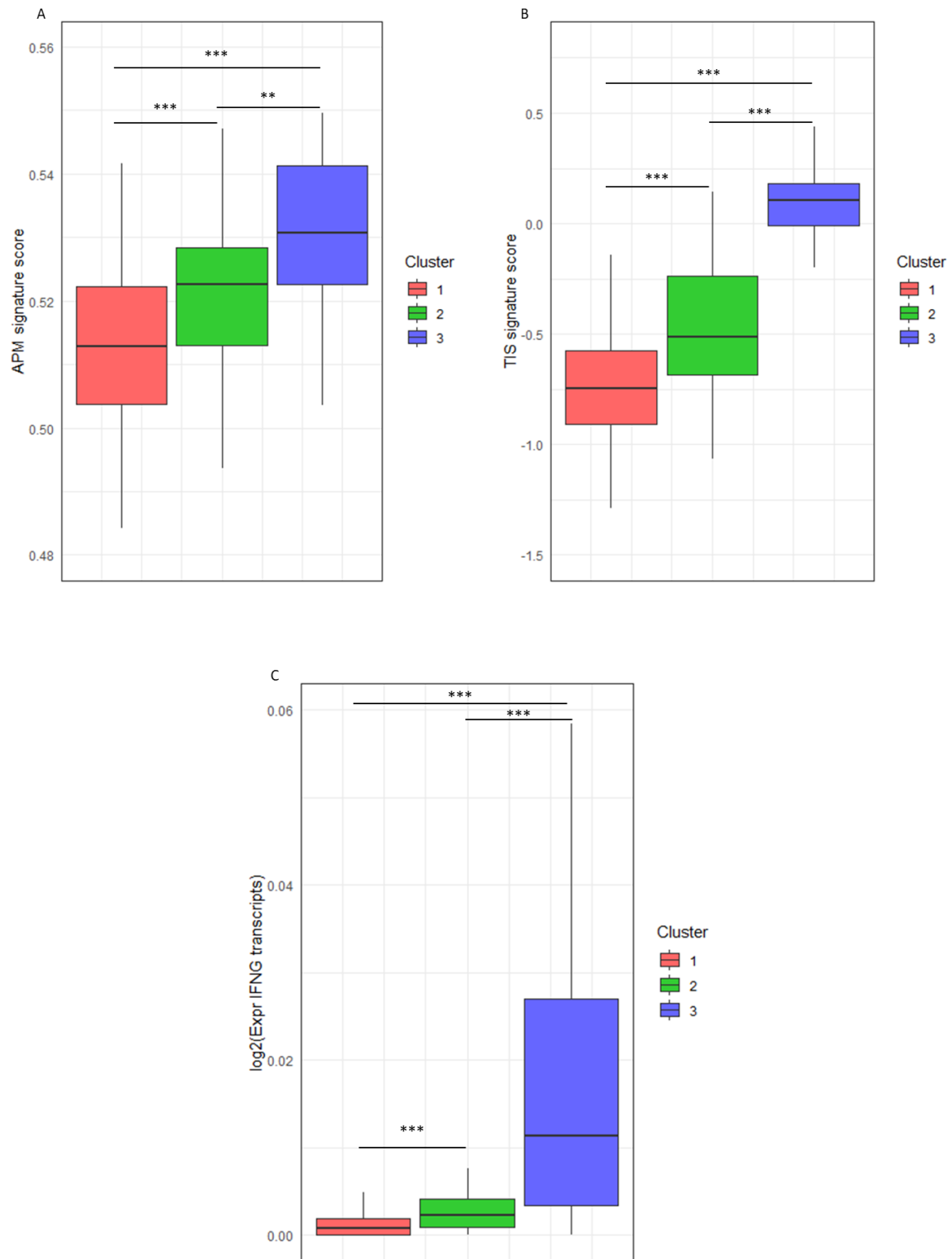


Figure 7 : Comparaison de la signature APM (A), du score TIS (B) et de l'expression de l'INFG (C) selon chaque cluster. Ces trois signatures prédictives de réponse à l'immunothérapie dans les ccRCC sont significativement plus importantes dans le cluster 3. Boxplots représentant la médiane et l'écart-interquartiles. Tests de Kruskal-wallis et comparaisons multiples (Benjamin-Hochberg) : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

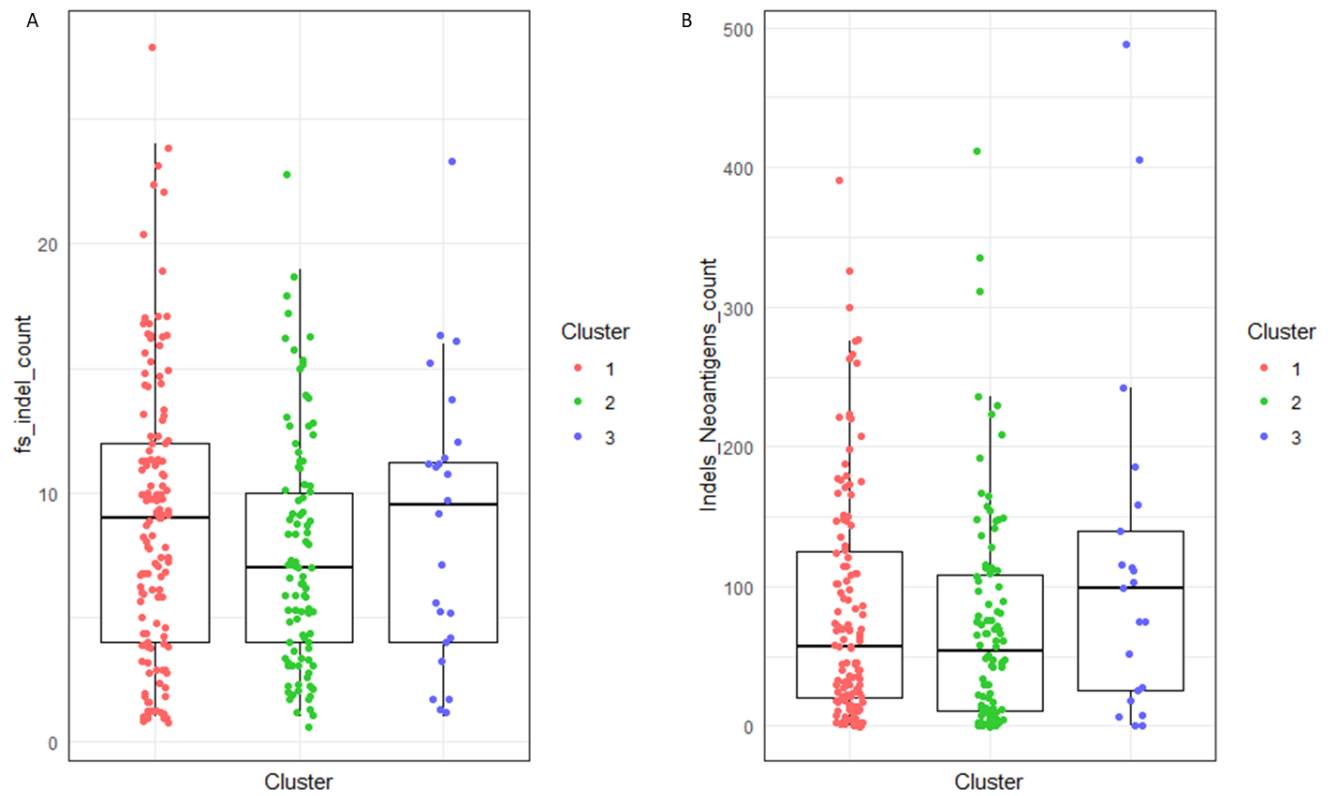


Figure 8 : Comparaison d'enrichissement en mutations types « Frameshift indels » selon chaque cluster. Le nombre d'indels issus du TCGA (package Maftools) (A) et le nombre de néoantigènes issus des indels issus des données de *Thorsson et al* (B) n'apparaissent pas significativement plus importants dans le cluster 3. Boxplots représentant la médiane et l'écart-interquartiles. Tests de Kruskal-wallis et comparaisons multiples (Benjamin-Hochberg).

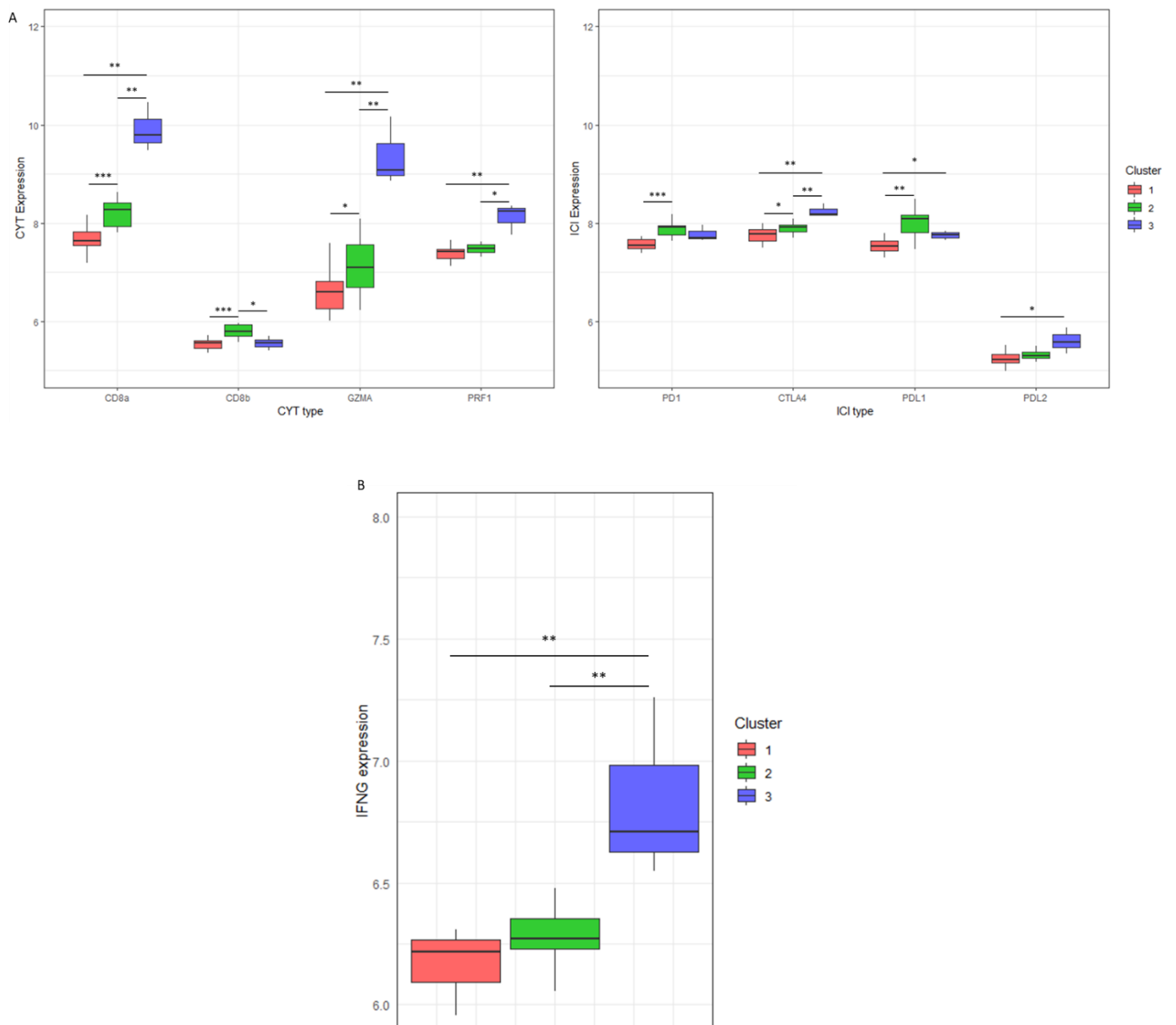


Figure 9 : Comparaison des 8 gènes d'intérêts (A) et de l'expression de l'interféron-gamma (B) entre chaque cluster dans la cohorte de validation. Boxplots représentant la médiane et l'écart-interquartiles. Tests de Kruskal-wallis et comparaisons multiples (Benjamin-Hochberg) : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Le carcinome rénal papillaire est le plus fréquent des nccRCC (7). Cependant sa prise en charge thérapeutique est non codifiée. Au vu des résultats très encourageants de l'immunothérapie par les inhibiteurs de checkpoint dans les ccRCC (51,52), il paraissait intéressant d'évaluer ce traitement dans les pRCC.

Notre étude clinique rétrospective représente la plus importante cohorte à ce jour ayant inclus exclusivement les pRCC traités par inhibiteurs de checkpoint (88). Nos résultats mettent en évidence que l'activité de ces traitements dans les pRCC est limitée avec un taux de réponse objective de 11%, un TTF de 3,2 mois et une OS de 14,6 mois, pour une majorité des patients inclus traités en 2^{ème} ligne et plus. Ces données sont cohérentes avec les données de la littérature. En effet, de manière générale, l'efficacité des traitements systémiques (TKI, mTOR) apparait limitée dans les pRCC (43-45,47). Par ailleurs, dans notre étude, le taux de réponse objective était de 25% pour les patients traités en 1^{ère} ligne mais l'effectif était réduit avec seulement 4 patients. Cependant ce résultat apparait similaire aux données de l'étude prospective récente, Keynote 427-b, évaluant le pembrolizumab, anticorps anti PD-1, en 1^{ère} ligne dans les nccRCC métastatiques (NCT02853344) (59). En effet, cette étude a pu inclure 165 patients dont 118 atteints de pRCC avec un ORR et une PFS retrouvés de 24.8% et 4.1 mois respectivement. Par ailleurs, dans notre étude, nous avons également pu observer quelques rares réponses complètes et durables, notamment dans les pRCC de type 2. Devant tous ces arguments, les traitements par inhibiteurs de checkpoint peuvent présenter un intérêt dans les pRCC. Cependant, il semble que ces traitements pourraient être efficaces seulement pour un sous-groupe restreint de patients, justifiant une approche de sélection par biomarqueurs.

Nous nous sommes alors intéressés au microenvironnement tumoral des pRCC sur le plan transcriptomique afin d'étudier le rationnel potentiel à traiter les patients atteints d'un pRCC

par immunothérapie par inhibiteurs de checkpoint. En effet, en se reposant sur 8 gènes d'intérêts prédéfinis, reflétant l'infiltration immunitaire cytotoxique et les marqueurs des points de contrôle immunitaires, pré-requis nécessaire à une réponse à l'immunothérapie, nous avons identifié 3 sous-groupes, du moins au plus infiltrés. Il apparaît donc bien que certains pRCC semblent plus infiltrés que d'autres, et donc potentiellement différents en termes de réponse aux inhibiteurs de checkpoint. La première limite de notre travail est liée au fait, qu'en dépit d'une cohorte conséquente, les tumeurs pRCC étudiées correspondaient majoritairement à des tumeurs non métastatiques pouvant ne pas représenter totalement le spectre de la maladie au stade métastatique (86). De plus, nous ne pouvons qu'émettre l'hypothèse du caractère prédictif de nos clusters, se basant sur la corrélation significative mise en évidence entre nos clusters et des signatures prédictives établies (81). Notre étude, étant principalement descriptive, a avant tout permis de mettre en évidence différents sous-groupes de tumeurs papillaires en termes d'infiltrats immunitaires.

En perspective, il s'avérera très intéressant de pouvoir créer une signature transcriptomique reposant sur nos 8 gènes d'intérêts. Pour cela, dans un premier temps, nous proposons de comparer cette potentielle signature à la signature TIS de 18 gènes (89,90), décrites dans les études évaluant le pembrolizumab, pouvant être considérée comme un gold standard (méthode de régression linéaire). Dans un second temps, nous pourrions envisager de réaliser 3 clusters à partir de la signature TIS et d'étudier alors de manière indépendante notre signature transcriptomique. Cette étape nous permettra de construire cette signature si nous confirmons que cette dernière permet également de différencier significativement chaque cluster. Enfin, il conviendra de réaliser cette étude avec des données de réponses à l'immunothérapie. La cohorte obtenue dans l'étude clinique ne permettrait pas de réaliser des transcriptomes de bonne qualité en raison des tissus tumoraux uniquement disponibles en paraffine, et l'analyse ne serait que rétrospective. Nous envisagerons dans ce cas de construire

des collaborations pour tester cette signature sur des cohortes cliniques prospectives telles qu'AcSé Nivolumab-cohorte nccRCC, nous permettant ainsi d'obtenir des données de réponses à l'immunothérapie. Cette ultime étape permettra de valider notre signature. De plus, à l'ère des traitements combinés par immunothérapie associée aux inhibiteurs des tyrosine-kinases, il pourra être intéressant d'évaluer ces combinaisons dans les pRCC. Nous pourrions également envisager d'étudier en complément la signature d'expression de gènes de l'angiogenèse. En effet, lorsque celle-ci est élevée, les patients atteints d'un ccRCC traités par sunitinib seul semblent avoir une meilleure PFS. Alors que lorsqu'elle est basse, un traitement combiné par avelumab et axitinib semble préférable (91). Ainsi, nous pourrions envisager des stratégies thérapeutiques différentes en fonction de chaque cluster, déterminé selon des signatures transcriptomiques prédictives, applicables dans les pRCC.

En conclusion, les traitements par inhibiteurs de checkpoint en monothérapie apparaissent avoir une activité limitée dans les pRCC métastatiques. Cependant, que ce soit à partir de notre étude clinique rétrospective ou notre étude transcriptomique, nous avons pu observer différents sous-groupes de patients, dont certains seraient plus susceptibles de répondre à l'immunothérapie. La validation d'une signature transcriptomique semble justifiée dans les pRCC afin de déterminer les stratégies thérapeutiques les plus adaptées, et ainsi pouvoir privilégier un traitement par TKI seul, immunothérapie par inhibiteurs de checkpoint seule ou potentiellement en combinaison, dans l'objectif d'une prise en charge personnalisée optimale.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ljungberg B, Campbell SC, Cho HY, Jacqmin D, Lee JE, Weikert S, et al. The Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol.* oct 2011;60(4):615-21.
2. INCa. Epidémiologie des cancers en France métropolitaine - Incidence et mortalité. INCa, Institut National du cancer.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018: Cancer Statistics, 2018. *CA Cancer J Clin.* janv 2018;68(1):7-30.
4. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012: Globocan 2012. *Int J Cancer.* 1 mars 2015;136(5):E359-86.
5. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs—Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol.* juill 2016;70(1):93-105.
6. Lopez-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, Scarpelli M, Kirkali Z, Montironi R. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. *Int J Urol Off J Jpn Urol Assoc.* mai 2009;16(5):432-43.
7. Cancer Genome Atlas Research Network, Linehan WM, Spellman PT, Ricketts CJ, Creighton CJ, Fei SS, et al. Comprehensive Molecular Characterization of Papillary Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 14 janv 2016;374(2):135-45.
8. Albiges L, Flippot R, Rioux-Leclercq N, Choueiri TK. Non-Clear Cell Renal Cell Carcinomas: From Shadow to Light. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 29 oct 2018;JCO2018792531.
9. Leroy X, Zini L, Leteurtre E, Zerimech F, Porchet N, Aubert J-P, et al. Morphologic Subtyping of Papillary Renal Cell Carcinoma: Correlation with Prognosis and Differential Expression of MUC1 between the Two Subtypes. *Mod Pathol.* nov 2002;15(11):1126-30.
10. Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, Bethwaite PB, Stewart JH, Bilous AM. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol.* juin 2001;32(6):590-5.
11. Shuch B, Amin A, Armstrong AJ, Eble JN, Ficarra V, Lopez-Beltran A, et al. Understanding pathologic variants of renal cell carcinoma: distilling therapeutic opportunities from biologic complexity. *Eur Urol.* janv 2015;67(1):85-97.
12. Chevarie-Davis M, Riazalhosseini Y, Arseneault M, Aprikian A, Kassouf W, Tanguay S, et al. The morphologic and immunohistochemical spectrum of papillary renal cell carcinoma: study including 132 cases with pure type 1 and type 2 morphology as well as tumors with overlapping features. *Am J Surg Pathol.* juill 2014;38(7):887-94.
13. Delahunt B, Cheville JC, Martignoni G, Humphrey PA, Magi-Galluzzi C, McKenney J, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) grading system for renal cell carcinoma and other prognostic parameters. *Am J Surg Pathol.* oct 2013;37(10):1490-504.
14. Srigley JR, Delahunt B, Eble JN, Egevad L, Epstein JI, Grignon D, et al. The International Society of Urological Pathology (ISUP) Vancouver Classification of Renal Neoplasia. *Am J Surg Pathol.* oct 2013;37(10):1469-89.
15. Signoretti S, Flaifel A, Chen Y-B, Reuter VE. Renal Cell Carcinoma in the Era of Precision Medicine: From Molecular Pathology to Tissue-Based Biomarkers. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 29 oct 2018;JCO2018792259.
16. Patard J-J, Leray E, Rioux-Leclercq N, Cindolo L, Ficarra V, Zisman A, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 avr 2005;23(12):2763-71.

17. Teloken PE, Thompson RH, Tickoo SK, Cronin A, Savage C, Reuter VE, et al. Prognostic impact of histological subtype on surgically treated localized renal cell carcinoma. *J Urol.* nov 2009;182(5):2132-6.
18. Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, Weaver AL, Blute ML. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* mai 2003;27(5):612-24.
19. Kroeger N, Xie W, Lee J-L, Bjarnason GA, Knox JJ, Mackenzie MJ, et al. Metastatic non-clear cell renal cell carcinoma treated with targeted therapy agents: characterization of survival outcome and application of the International mRCC Database Consortium criteria. *Cancer.* 15 août 2013;119(16):2999-3006.
20. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, Berg W, Amsterdam A, Ferrara J. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* août 1999;17(8):2530-40.
21. Ko JJ, Xie W, Kroeger N, Lee J, Rini BI, Knox JJ, et al. The International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium model as a prognostic tool in patients with metastatic renal cell carcinoma previously treated with first-line targeted therapy: a population-based study. *Lancet Oncol.* mars 2015;16(3):293-300.
22. Vera-Badillo FE, Templeton AJ, Duran I, Ocana A, de Gouveia P, Aneja P, et al. Systemic Therapy for Non-clear Cell Renal Cell Carcinomas: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur Urol.* avr 2015;67(4):740-9.
23. de Velasco G, McKay RR, Lin X, Moreira RB, Simantov R, Choueiri TK. Comprehensive Analysis of Survival Outcomes in Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma Patients Treated in Clinical Trials. *Clin Genitourin Cancer.* déc 2017;15(6):652-660.e1.
24. Allory Y, Ouazana D, Boucher E, Thiounn N, Vieillefond A. Papillary renal cell carcinoma. Prognostic value of morphological subtypes in a clinicopathologic study of 43 cases. *Virchows Arch Int J Pathol.* avr 2003;442(4):336-42.
25. Klatte T, Pantuck AJ, Said JW, Seligson DB, Rao NP, LaRochelle JC, et al. Cytogenetic and molecular tumor profiling for type 1 and type 2 papillary renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 févr 2009;15(4):1162-9.
26. Connor Wells J, Donskov F, Fraccon AP, Pasini F, Bjarnason GA, Beuselinck B, et al. Characterizing the outcomes of metastatic papillary renal cell carcinoma. *Cancer Med.* mai 2017;6(5):902-9.
27. Schmidt LS, Linehan WM. Genetic predisposition to kidney cancer. *Semin Oncol.* oct 2016;43(5):566-74.
28. Schmidt L, Duh F-M, Chen F, Kishida T, Glenn G, Choyke P, et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet.* mai 1997;16(1):68-73.
29. Albiges L, Guegan J, Le Formal A, Verkarre V, Rioux-Leclercq N, Sibony M, et al. MET Is a Potential Target across All Papillary Renal Cell Carcinomas: Result from a Large Molecular Study of pRCC with CGH Array and Matching Gene Expression Array. *Clin Cancer Res.* 1 juill 2014;20(13):3411-21.
30. Tomlinson IPM, Alam NA, Rowan AJ, Barclay E, Jaeger EEM, Kelsell D, et al. Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat Genet.* avr 2002;30(4):406-10.
31. Kotecha RR, Motzer RJ, Voss MH. Towards individualized therapy for metastatic renal cell carcinoma. *Nat Rev Clin Oncol [Internet].* 16 avr 2019 [cité 30 mai 2019]; Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/s41571-019-0209-1>
32. Escudier B, Porta C, Schmidinger M, Rioux-Leclercq N, Bex A, Khoo V, et al. Renal cell carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†.

- Ann Oncol [Internet]. 21 févr 2019 [cité 30 mai 2019]; Disponible sur: <https://academic.oup.com/annonc/advance-article/doi/10.1093/annonc/mdz056/5345645>
33. Ljungberg B, Albiges L, Abu-Ghanem Y, Bensalah K, Dabestani S, Fernández-Pello S, et al. European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: The 2019 Update. *Eur Urol*. mai 2019;75(5):799-810.
 34. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, et al. Temsirolimus, Interferon Alfa, or Both for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 31 mai 2007;356(22):2271-81.
 35. Hutson TE, Escudier B, Esteban E, Bjarnason GA, Lim HY, Pittman KB, et al. Randomized Phase III Trial of Temsirolimus Versus Sorafenib As Second-Line Therapy After Sunitinib in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. 10 mars 2014;32(8):760-7.
 36. Koh Y, Lim HY, Ahn JH, Lee J-L, Rha SY, Kim YJ, et al. Phase II trial of everolimus for the treatment of nonclear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol*. avr 2013;24(4):1026-31.
 37. Lee J-L, Ahn J-H, Lim HY, Park SH, Lee SH, Kim TM, et al. Multicenter phase II study of sunitinib in patients with non-clear cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol*. 1 août 2012;23(8):2108-14.
 38. Armstrong AJ, Halabi S, Eisen T, Broderick S, Stadler WM, Jones RJ, et al. Everolimus versus sunitinib for patients with metastatic non-clear cell renal cell carcinoma (ASPEN): a multicentre, open-label, randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. mars 2016;17(3):378-88.
 39. Tannir NM, Jonasch E, Albiges L, Altinmakas E, Ng CS, Matin SF, et al. Everolimus Versus Sunitinib Prospective Evaluation in Metastatic Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma (ESPN): A Randomized Multicenter Phase 2 Trial. *Eur Urol*. mai 2016;69(5):866-74.
 40. Motzer RJ, Barrios CH, Kim TM, Falcon S, Cosgriff T, Harker WG, et al. Phase II Randomized Trial Comparing Sequential First-Line Everolimus and Second-Line Sunitinib Versus First-Line Sunitinib and Second-Line Everolimus in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. sept 2014;32(25):2765-72.
 41. Fernández-Pello S, Hofmann F, Tahbaz R, Marconi L, Lam TB, Albiges L, et al. A Systematic Review and Meta-analysis Comparing the Effectiveness and Adverse Effects of Different Systemic Treatments for Non-clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol*. mars 2017;71(3):426-36.
 42. Campbell MT, Bilen MA, Shah AY, Lemke E, Jonasch E, Venkatesan AM, et al. Cabozantinib for the treatment of patients with metastatic non-clear cell renal cell carcinoma: A retrospective analysis. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. nov 2018;104:188-94.
 43. Martínez Chanzá N, Xie W, Asim Bilen M, Dzimitrowicz H, Burkart J, Geynisman DM, et al. Cabozantinib in advanced non-clear-cell renal cell carcinoma: a multicentre, retrospective, cohort study. *Lancet Oncol*. 28 févr 2019;
 44. Ravaud A, Oudard S, De Fromont M, Chevreau C, Gravis G, Zanetta S, et al. First-line treatment with sunitinib for type 1 and type 2 locally advanced or metastatic papillary renal cell carcinoma: a phase II study (SUPAP) by the French Genitourinary Group (GETUG)[†]. *Ann Oncol*. juin 2015;26(6):1123-8.
 45. Escudier B, Molinie V, Bracarda S, Maroto P, Szczylik C, Nathan P, et al. Open-label phase 2 trial of first-line everolimus monotherapy in patients with papillary metastatic renal cell carcinoma: RAPTOR final analysis. *Eur J Cancer*. déc 2016;69:226-35.
 46. Gordon MS, Hussey M, Nagle RB, Lara PN, Mack PC, Dutcher J, et al. Phase II Study of Erlotinib in Patients With Locally Advanced or Metastatic Papillary Histology Renal Cell Cancer: SWOG S0317. *J Clin Oncol*. déc 2009;27(34):5788-93.

47. Negrier S, Rioux-Leclercq N, Ravaud A, Gravis G, Geoffrois L, Chevreau C, et al. Efficacy and safety of axitinib in metastatic papillary renal carcinoma (mPRC): results of a GETUG multicenter phase II trial (Axipap). Abstract ESMO 2018. 2018;
48. Choueiri TK, Vaishampayan U, Rosenberg JE, Logan TF, Harzstark AL, Bukowski RM, et al. Phase II and Biomarker Study of the Dual MET/VEGFR2 Inhibitor Foretinib in Patients With Papillary Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. 10 janv 2013;31(2):181-6.
49. Choueiri TK, Plimack E, Arkenau H-T, Jonasch E, Heng DY, Powles T, et al. Biomarker-Based Phase II Trial of Savolitinib in Patients With Advanced Papillary Renal Cell Cancer. *J Clin Oncol*. 10 sept 2017;35(26):2993-3001.
50. Schöffski P, Wozniak A, Escudier B, Rutkowski P, Anthoney A, Bauer S, et al. Crizotinib achieves long-lasting disease control in advanced papillary renal-cell carcinoma type 1 patients with MET mutations or amplification. EORTC 90101 CREATE trial. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. 2017;87:147-63.
51. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*. 5 nov 2015;373(19):1803-13.
52. Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, Arén Frontera O, Melichar B, Choueiri TK, et al. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* [Internet]. 21 mars 2018 [cité 26 mars 2018]; Disponible sur: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1712126>
53. Choueiri TK, Fay AP, Gray KP, Callea M, Ho TH, Albiges L, et al. PD-L1 expression in nonclear-cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol*. 1 nov 2014;25(11):2178-84.
54. Stukalin I, Wells JC, Graham J, Yuasa T, Beuselinck B, Kollmansberger C, et al. Real-world outcomes of nivolumab and cabozantinib in metastatic renal cell carcinoma: results from the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Curr Oncol Tor Ont*. avr 2019;26(2):e175-9.
55. Yip SM, Wells C, Moreira R, Wong A, Srinivas S, Beuselinck B, et al. Checkpoint inhibitors in patients with metastatic renal cell carcinoma: Results from the International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium. *Cancer*. 15 sept 2018;124(18):3677-83.
56. Koshkin VS, Barata PC, Zhang T, George DJ, Atkins MB, Kelly WJ, et al. Clinical activity of nivolumab in patients with non-clear cell renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer* [Internet]. déc 2018 [cité 24 mars 2018];6(1). Disponible sur: <https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-018-0319-9>
57. McKay RR, Bossé D, Xie W, Wankowicz SAM, Flaifel A, Brandao R, et al. The Clinical Activity of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Metastatic Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res*. juill 2018;6(7):758-65.
58. McDermott DF, Sosman JA, Sznol M, Massard C, Gordon MS, Hamid O, et al. Atezolizumab, an Anti-Programmed Death-Ligand 1 Antibody, in Metastatic Renal Cell Carcinoma: Long-Term Safety, Clinical Activity, and Immune Correlates From a Phase Ia Study. *J Clin Oncol*. 10 mars 2016;34(8):833-42.
59. McDermott DF. KEYNOTE 427-Cohort B. ASCO GU #Abstract 546. 2019;
60. McKay RR, Choueiri TK. Results of a phase II study of atezolizumab and bevacizumab in non-clear cell renal cell carcinoma (nccRCC) and clear cell renal cell carcinoma with sarcomatoid differentiation (sccRCC). ASCO GU #Abstract 548. 2019;
61. Powles. A phase II study investigating the safety and efficacy of savolitinib and durvalumab in metastatic papillary renal cancer (CALYPSO). ASCO GU #Abstract 545. 2019;
62. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 4 mars 2011;144(5):646-74.

63. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:329-60.
64. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases--elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* avr 2014;27:16-25.
65. Matsushita H, Vesely MD, Koboldt DC, Rickert CG, Uppaluri R, Magrini VJ, et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature.* 8 févr 2012;482(7385):400-4.
66. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer.* 15 2012;12(4):298-306.
67. Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJM, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 27 nov 2014;515(7528):568-71.
68. Gajewski TF, Schreiber H, Fu Y-X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol.* oct 2013;14(10):1014-22.
69. Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med.* 1 sept 1991;174(3):561-9.
70. van der Merwe PA, Bodian DL, Daenke S, Linsley P, Davis SJ. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J Exp Med.* 3 févr 1997;185(3):393-403.
71. Callahan MK, Postow MA, Wolchok JD. Targeting T Cell Co-receptors for Cancer Therapy. *Immunity.* 17 2016;44(5):1069-78.
72. Pauken KE, Wherry EJ. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol.* avr 2015;36(4):265-76.
73. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol.* avr 2012;24(2):207-12.
74. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol.* mars 2001;2(3):261-8.
75. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2 oct 2000;192(7):1027-34.
76. Curiel TJ, Wei S, Dong H, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, et al. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity. *Nat Med.* mai 2003;9(5):562-7.
77. Vajaitu C, Draghici CC, Solomon I, Lisievici CV, Popa AV, Lupu M, et al. The Central Role of Inflammation Associated with Checkpoint Inhibitor Treatments. *J Immunol Res.* 2018;2018:4625472.
78. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science.* 23 2018;359(6382):1350-5.
79. Charoentong P, Finotello F, Angelova M, Mayer C, Efremova M, Rieder D, et al. Pan-cancer Immunogenomic Analyses Reveal Genotype-Immunophenotype Relationships and Predictors of Response to Checkpoint Blockade. *Cell Rep.* 3 janv 2017;18(1):248-62.
80. Dyck L, Mills KHG. Immune checkpoints and their inhibition in cancer and infectious diseases. *Eur J Immunol.* 2017;47(5):765-79.
81. Şenbabaoğlu Y, Gejman RS, Winer AG, Liu M, Van Allen EM, de Velasco G, et al. Tumor immune microenvironment characterization in clear cell renal cell carcinoma identifies prognostic and immunotherapeutically relevant messenger RNA signatures. *Genome Biol.* 17 2016;17(1):231.

82. Rooney MS, Shukla SA, Wu CJ, Getz G, Hacohen N. Molecular and Genetic Properties of Tumors Associated with Local Immune Cytolytic Activity. *Cell*. janv 2015;160(1-2):48-61.
83. Giraldo NA, Becht E, Pagès F, Skliris G, Verkarre V, Vano Y, et al. Orchestration and Prognostic Significance of Immune Checkpoints in the Microenvironment of Primary and Metastatic Renal Cell Cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 juill 2015;21(13):3031-40.
84. Nakano O, Sato M, Naito Y, Suzuki K, Orikasa S, Aizawa M, et al. Proliferative activity of intratumoral CD8(+) T-lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell carcinoma: clinicopathologic demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res*. 1 juill 2001;61(13):5132-6.
85. Drake CG, Stein MN. The Immunobiology of Kidney Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 29 oct 2018;JCO2018792648.
86. Ricketts CJ, De Cubas AA, Fan H, Smith CC, Lang M, Reznik E, et al. The Cancer Genome Atlas Comprehensive Molecular Characterization of Renal Cell Carcinoma. *Cell Rep*. 3 avr 2018;23(1):313-326.e5.
87. Petitprez F, Sun C-M, Lacroix L, Sautès-Fridman C, de Reyniès A, Fridman WH. Quantitative Analyses of the Tumor Microenvironment Composition and Orientation in the Era of Precision Medicine. *Front Oncol*. 2018;8:390.
88. de Vries-Brilland M, Gross-Goupil M, Seegers V, Boughalem E, Beuselinck B, Thibault C, et al. Are immune checkpoint inhibitors (ICI) a valid option for papillary renal cell carcinoma (pRCC)? A multicenter retrospective study.
89. Danaher P, Warren S, Lu R, Samayoa J, Sullivan A, Pekker I, et al. Pan-cancer adaptive immune resistance as defined by the Tumor Inflammation Signature (TIS): results from The Cancer Genome Atlas (TCGA). *J Immunother Cancer [Internet]*. déc 2018 [cité 18 mars 2019];6(1). Disponible sur: <https://jitc.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40425-018-0367-1>
90. Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M, Murphy E, Loboda A, Kaufman DR, et al. IFN- γ -related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest*. 1 août 2017;127(8):2930-40.
91. Choueiri TK. Biomarker analyses from JAVELIN Renal 101: Avelumab + axitinib (A+Ax) versus sunitinib (S) in advanced renal cell carcinoma (aRCC).

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanismes d'action des points de contrôle immunitaires CTLA-4 et PD-1.....	15
--	----

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques, pathologiques, moléculaires et pronostiques des pRCC de type 1 et 2	5
Tableau 2 : Séries prospectives évaluant les traitements par thérapies ciblées dans les pRCC	9
Tableau 3 : Séries rétrospectives et prospectives évaluant l'immunothérapie dans les nccRCC dont les pRCC. .	12

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	XII
INTRODUCTION.....	1
1. Rationnel clinique	1
1.1. Le cancer du rein : place du carcinome papillaire.....	1
1.2. Anatomopathologie des carcinomes rénaux papillaires.....	1
1.3. Pronostic des carcinomes rénaux papillaires.....	2
1.4. Biologie des carcinomes rénaux papillaires	3
1.5. Thérapies ciblées et nccRCC	6
1.6. Thérapies ciblées et PRCC	8
1.7. Immunothérapie et nccRCC.....	10
1.8. Immunothérapie et pRCC.....	12
2. Rationnel biologique	13
2.1. Infiltration immunitaire : généralités dans le cancer.....	13
2.2. Principes de l’immunothérapie par les inhibiteurs de checkpoint.....	14
2.3. Infiltration immunitaire et RCC	16
3. Hypothèse de travail et objectifs.....	17
PARTIE 1	18
PARTIE 2	19
DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	20
BIBLIOGRAPHIE	23
LISTE DES FIGURES	29
LISTE DES TABLEAUX	29
TABLE DES MATIERES.....	30

**Are immune checkpoint inhibitors a valid option for papillary Renal Cell Carcinoma?
A multicenter retrospective study**

ABSTRACT 1

Background: Papillary Renal Cell Carcinoma (pRCC) is the most common non-clear cell RCC (nccRCC) and represents up to 15% of RCC. Pivotal studies evaluating immune checkpoint inhibitors mostly excluded nccRCC.

Objective: To evaluate the activity of immune checkpoint inhibitors specifically in metastatic pRCC

Design, setting, and participants: We retrospectively investigated the efficacy and safety of PD-1/PD-L1 inhibitors in patients with metastatic pRCC from 15 centers in France and Belgium.

Outcome measurements and statistical analysis: Primary endpoint was time-to-treatment failure (TTF). Secondary endpoints included objective response rate (ORR), overall survival (OS) and treatment-related adverse events (TRAEs). Descriptive statistics and Kaplan-Meier method were used for the overall cohort and by histology subgroups.

Results and limitations: From 02/2016 to 01/2019, 57 pRCC patients were included. Histology included 16 (28%) type 1 pRCC, 34 (60%) type 2 pRCC, and 7 (12%) unclassified pRCC. Immune checkpoint inhibitors treatment was used in the first-line setting in 4 patients (7%), in second-line in 32 patients (56%) and in third-line or beyond in 21 patients (37%). With a median follow up of 12 months (95% Confidence Interval (CI): 9.9-21.0), the median TTF was 3.1 months (95%CI: 2.7-5.0). Median TTF was 5 months (95%CI: 2.7-NA) in type 1, 2.9 months (95%CI: 2.4-6.7) in type 2 and 4.1 months (95%CI: 2.3-NA) in unclassified pRCC ($p=0.1$). Among the 55 patients evaluable for ORR, best response was complete response/partial response in 6 patients (11%), stable disease in 18 patients (33%) and progressive disease in 31 patients (56%). Median OS was 14.6 months (95%CI: 9.0- not reached). TRAEs of grade 3-4 were noted in 6 patients (10%) leading to treatment discontinuation, no grade 5 TRAEs were observed.

Conclusion: PD-1/PD-L1 inhibitors exhibit limited activity as monotherapy in this pRCC population, which remains an unmet need. Our findings underline the need for further prospective clinical trials evaluating immune checkpoint inhibitors combinations in patients with pRCC.

Patient summary: In this study, we evaluated the activity of immune checkpoint inhibitors specifically in metastatic papillary renal cell carcinoma. This treatment may be a therapeutic option but it would be interesting to study treatment combinations and to better target patients who could benefit

Keywords: metastatic papillary renal-cell cancer, immunotherapy, PD-1/PD-L1 inhibitors

**Are immune checkpoint inhibitors a valid option for papillary Renal Cell Carcinoma?
Transcriptomic characterization of the immune infiltrate**

ABSTRACT 2

Background: Papillary Renal Cell Carcinoma (pRCC) is the most common non-clear cell RCC (nccRCC). Pivotal studies evaluating immune checkpoint inhibitors mostly excluded nccRCC. PD-1/PD-L1 inhibitors exhibit limited activity in metastatic pRCC. The immune microenvironment in pRCC is unknown.

Methods: In silico, we studied the expression of cytotoxic lymphocyte infiltration (CYT), using a descriptive (CIBERSORT) and specific quantitative approach, as well as the expression of inhibitors checkpoint immune markers (ICI), in 258 localized papillary renal cell tumors using RNA-seq data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) as training set. Based on previous report, we selected 8 genes of interest (CD8a, CD8b, GZMA, PRF1, PD1, PDL1, PDL2 and CTLA4). An independent data set of 34 localized pRCC (gene expression) was used as a validation set.

Results: Using a clustering method based on the expression level of 8 predefined genes of interest, we identified 3 groups, differentiated by CYT and ICI expression. In validation cohort, we observed similar clustering. Cluster 3, characterized by a CYT and ICI high expression, was significantly associated with increased population of TCD8, TCD4 helper, M1 macrophages and dendritic cells in CIBERSORT analysis. Additionally, these immune clusters were not associated with indels neo-antigen load but were significantly correlated with the MHC class I antigen presenting machinery expression (APM) ($p=1.1 \times 10^{-11}$), TIS score ($p=2.2 \times 10^{-16}$) and interferon-gamma gene expression ($p=1.6 \times 10^{-13}$).

Conclusion: We characterized cytotoxic immune infiltration in pRCCs. Cluster 3 could represent the candidate population for PD-1/PD-L1 inhibitors. Transcriptomic immune signature validation in pRCCs patients treated with immunotherapy is warranted.

Keywords: papillary renal-cell cancer, tumor immune microenvironment, PD-1/PD-L1 inhibitors, immunogenomics, TCGA