

La charge mutationnelle : un biomarqueur émergent ?

24 Mai 2019

Angoulême

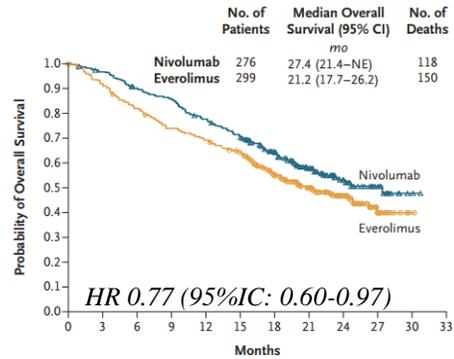
Charlotte Domblides



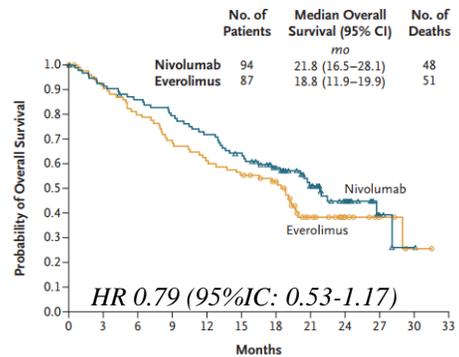
PDL-1, un biomarqueur insuffisant



PDL-1, un biomarqueur insuffisant



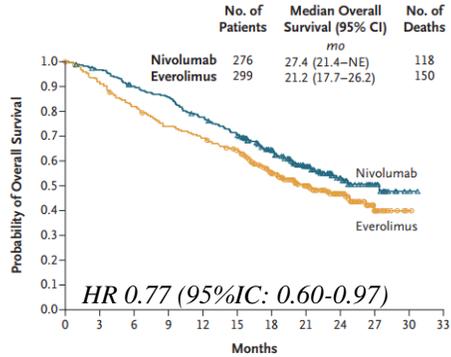
PD-L1 < 1%



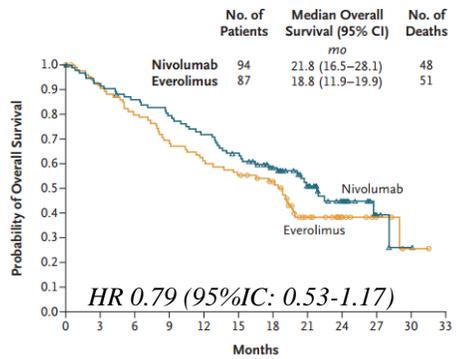
PD-L1 ≥ 1%



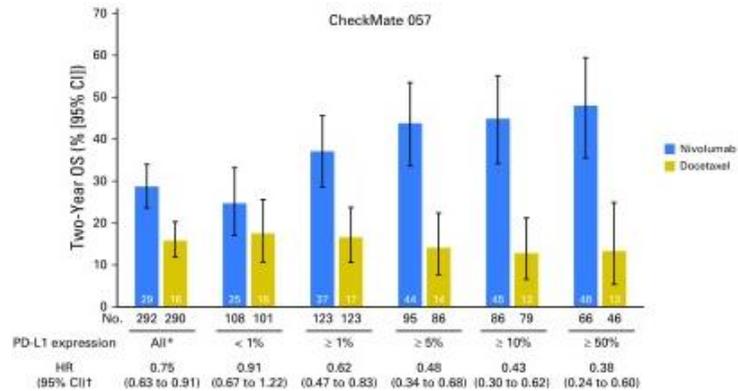
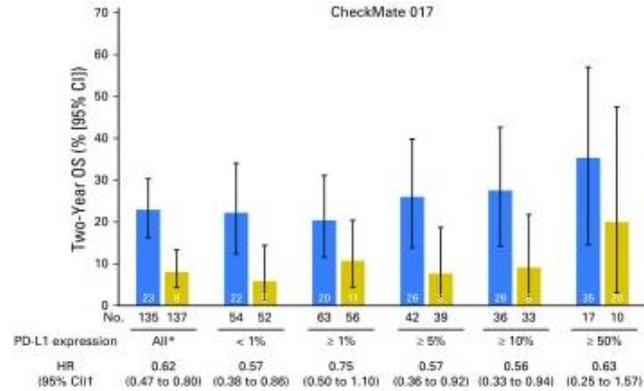
PDL-1, un biomarqueur insuffisant



PD-L1 < 1%

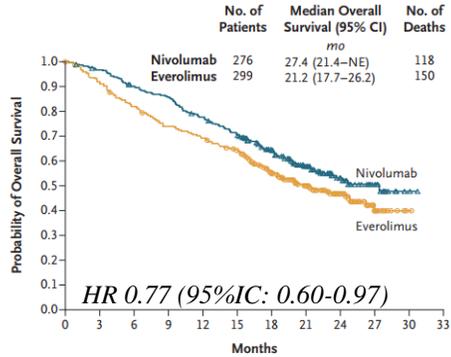


PD-L1 ≥ 1%

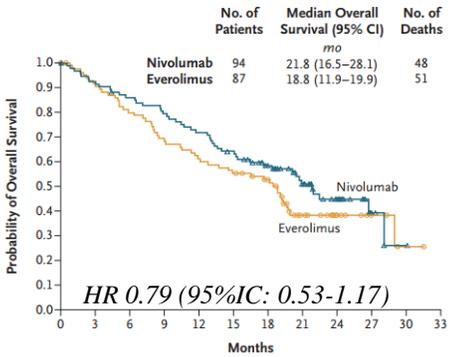




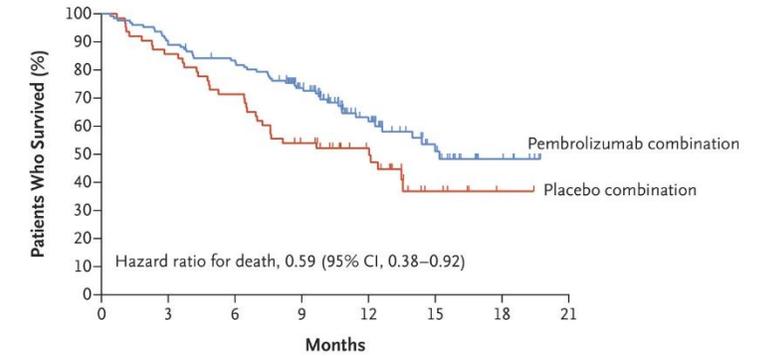
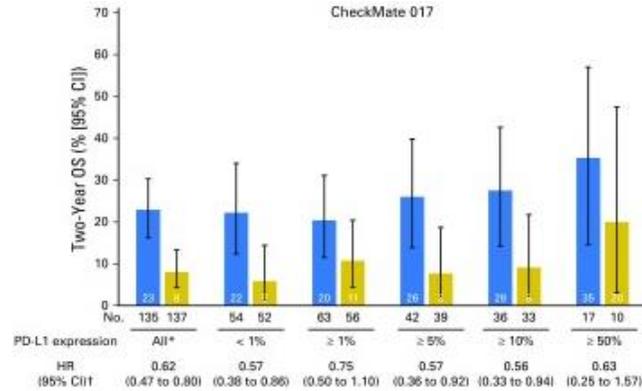
PDL-1, un biomarqueur insuffisant



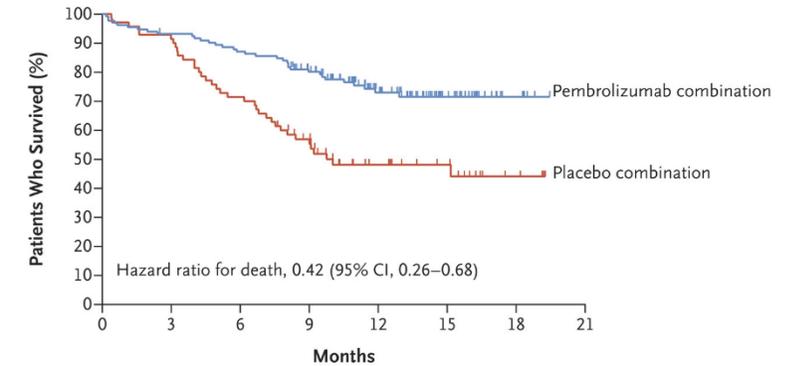
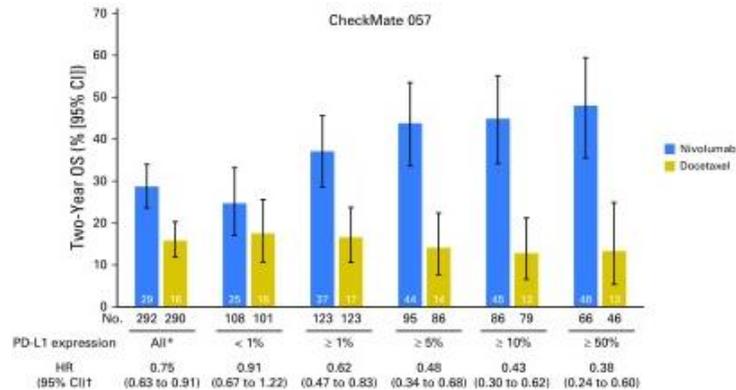
PD-L1 < 1%



PD-L1 ≥ 1%



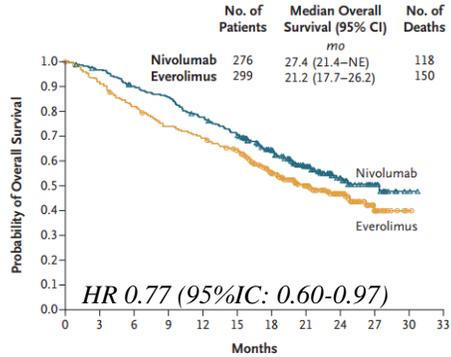
PD-L1 < 1%



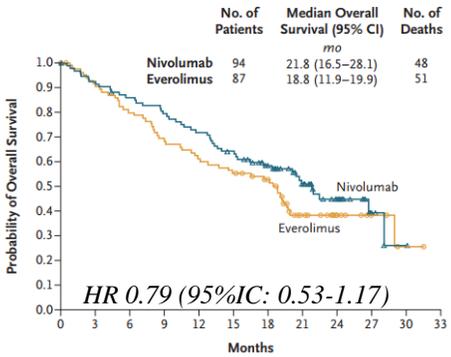
PD-L1 ≥ 50%



PDL-1, un biomarqueur insuffisant



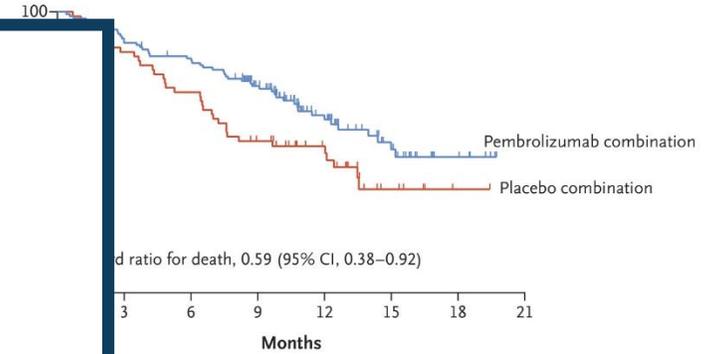
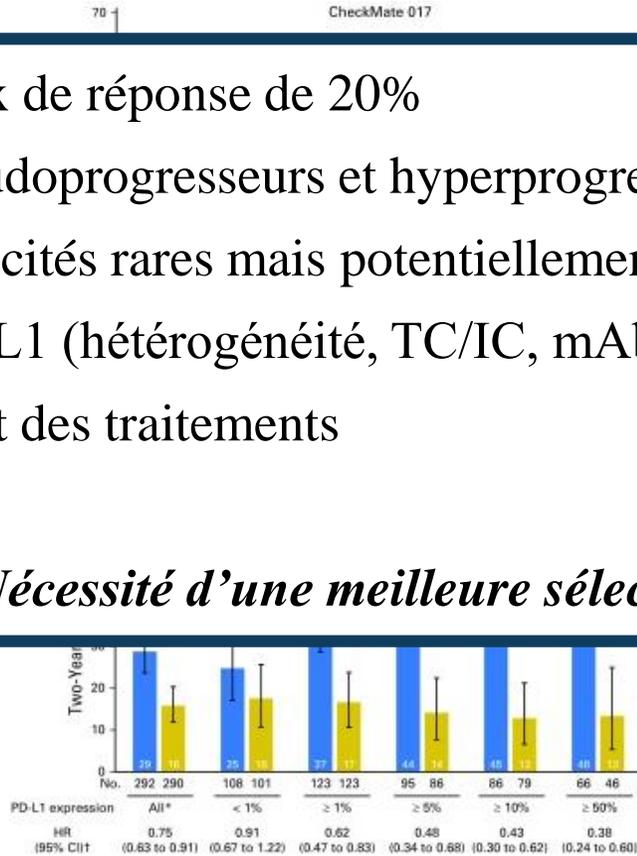
PD-L1 < 1%



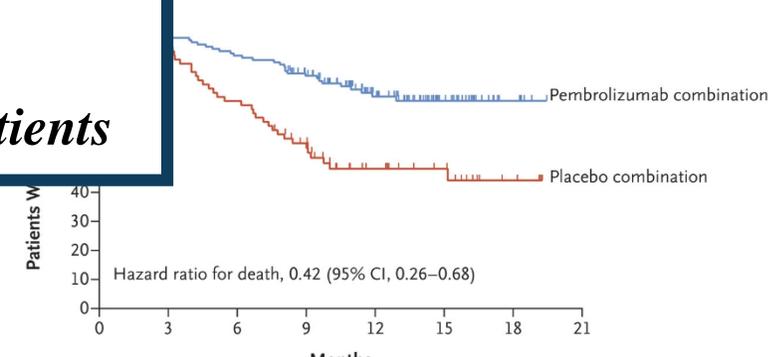
PD-L1 ≥ 1%

Taux de réponse de 20%
 Pseudoprogresseurs et hyperprogresseurs
 Toxicités rares mais potentiellement graves
 PD-L1 (hétérogénéité, TC/IC, mAb, seuils...)
 Coût des traitements

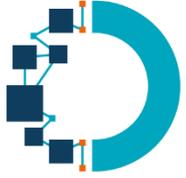
→ Nécessité d'une meilleure sélection des patients



PD-L1 < 1%



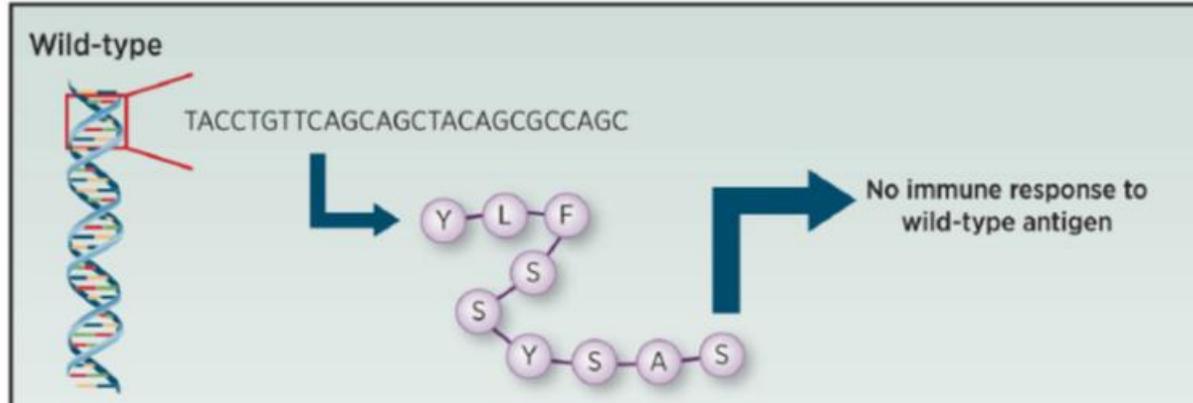
PD-L1 ≥ 50%



La charge mutationnelle (Tumor Mutational Burden)

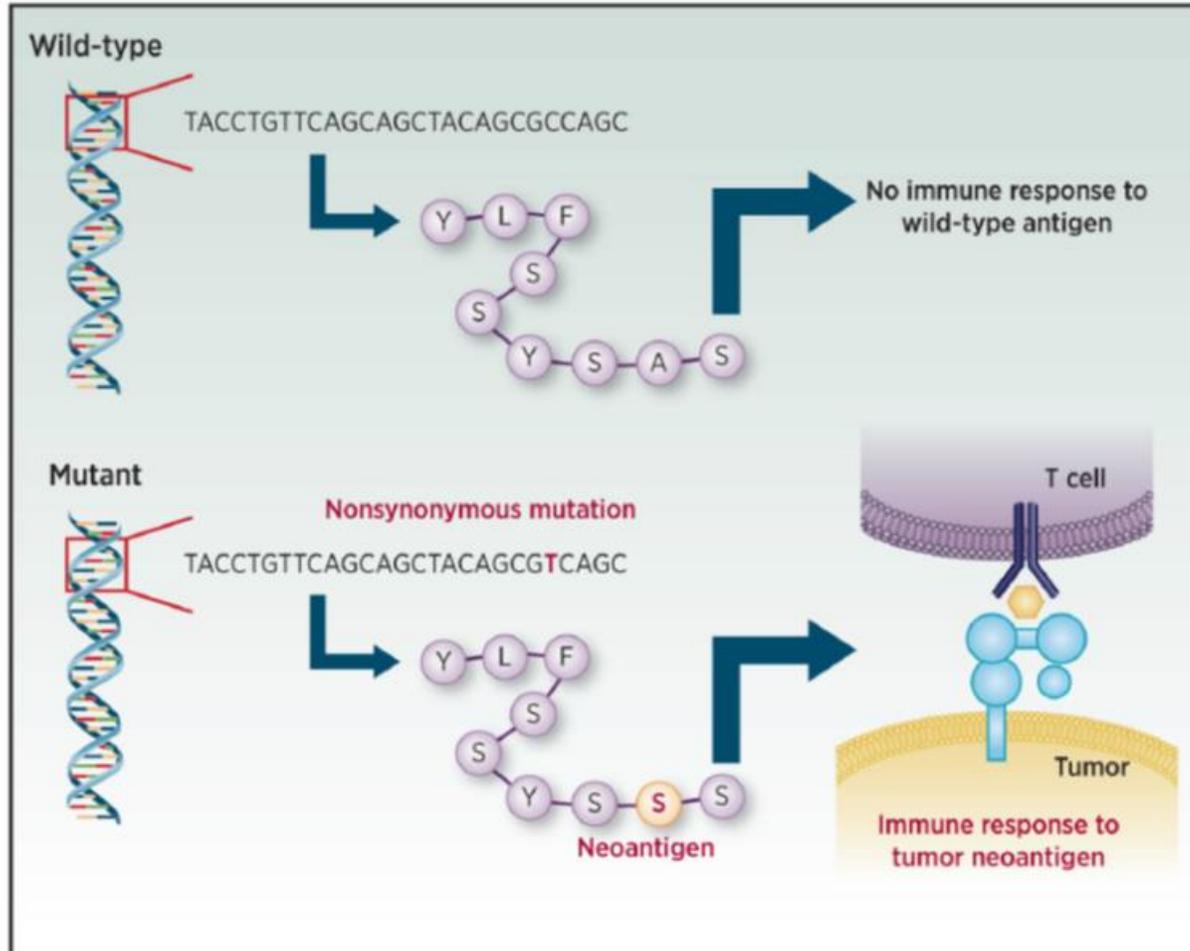


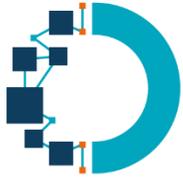
La charge mutationnelle (Tumor Mutational Burden)



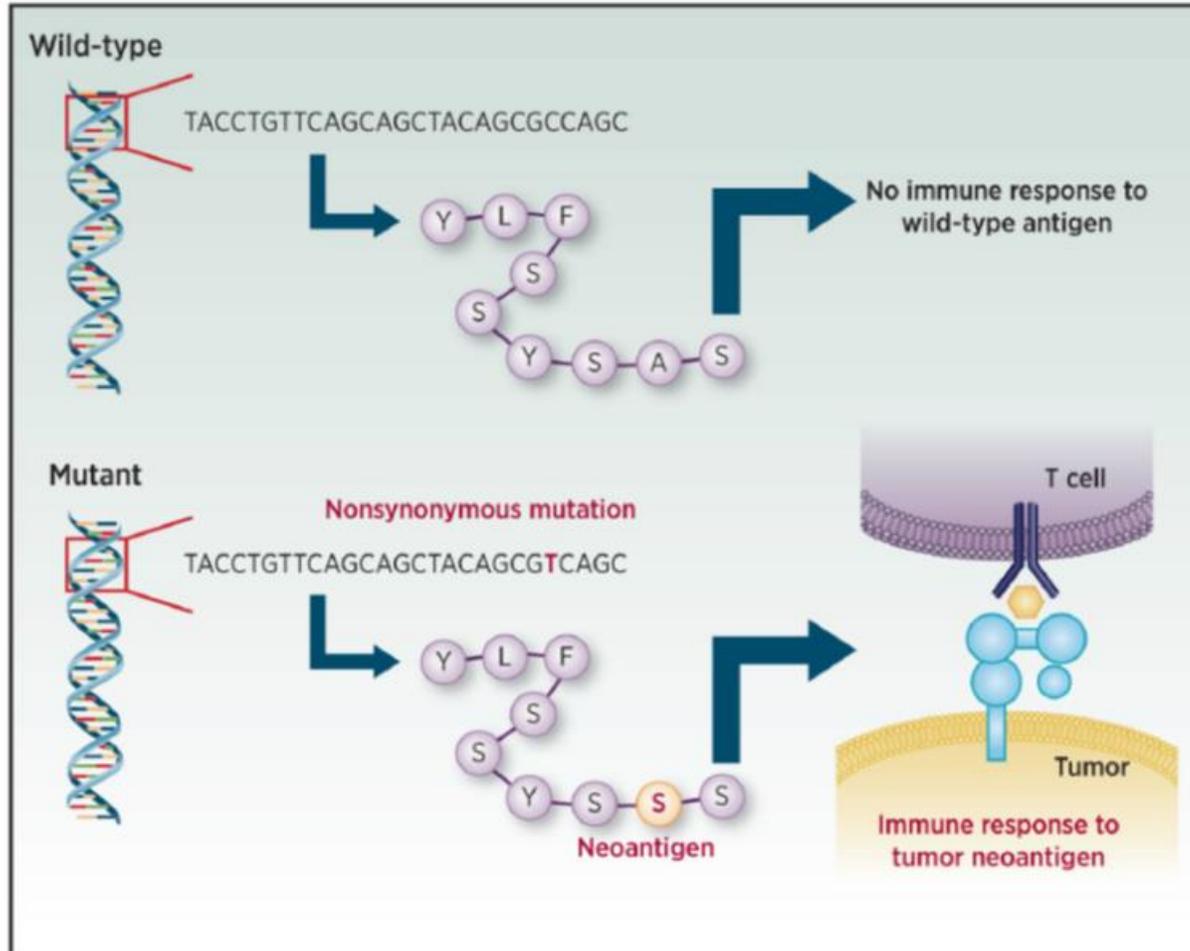


La charge mutationnelle (Tumor Mutational Burden)





La charge mutationnelle (Tumor Mutational Burden)



Mutations acquises de l'ADN

Instabilité des microsatellites

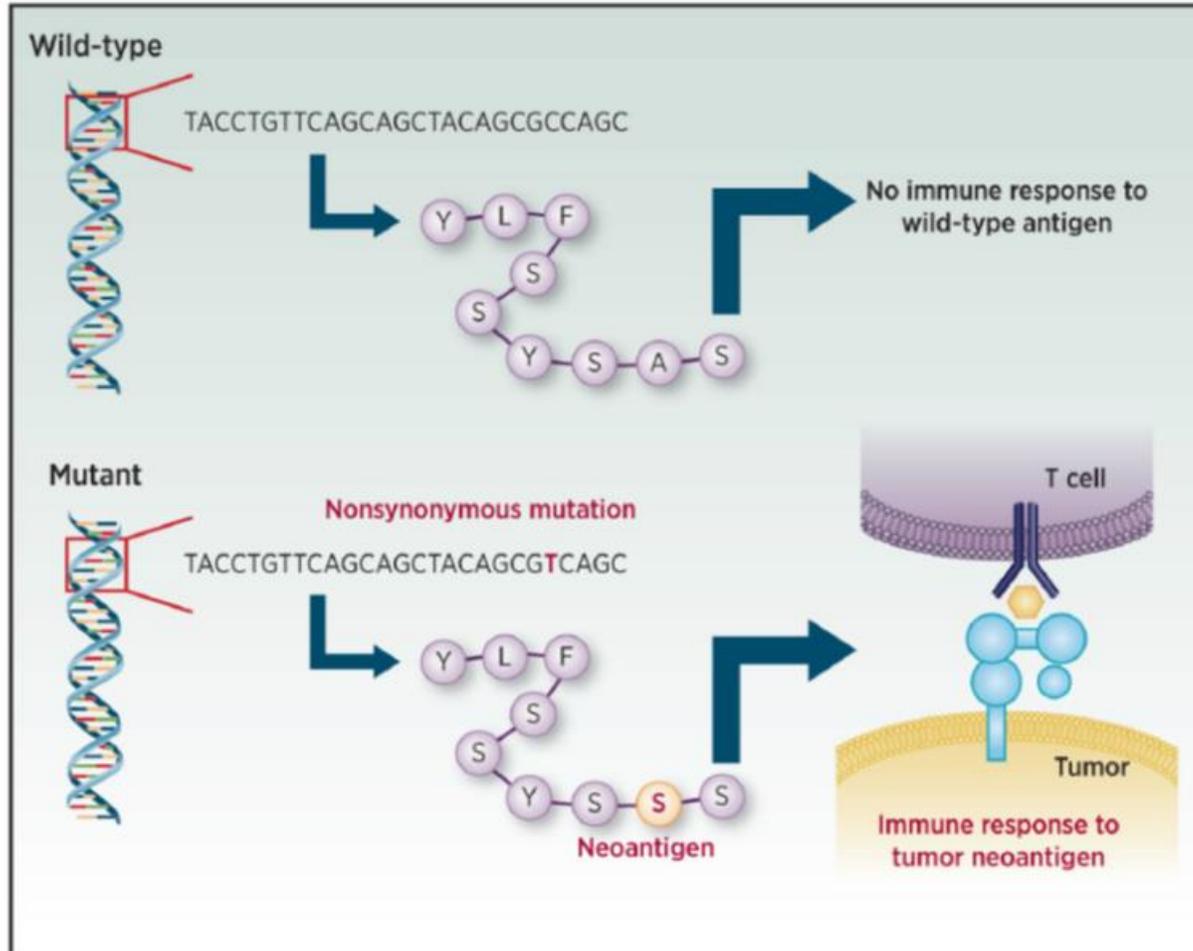
Défaut de réparation de l'ADN

Exposition à des carcinogènes (tabac, UV)

Tumeurs viro-induites



La charge mutationnelle (Tumor Mutational Burden)



Mutations acquises de l'ADN

Instabilité des microsatellites

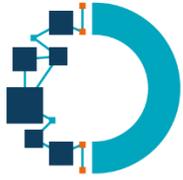
Défaut de réparation de l'ADN

Exposition à des carcinogènes (tabac, UV)

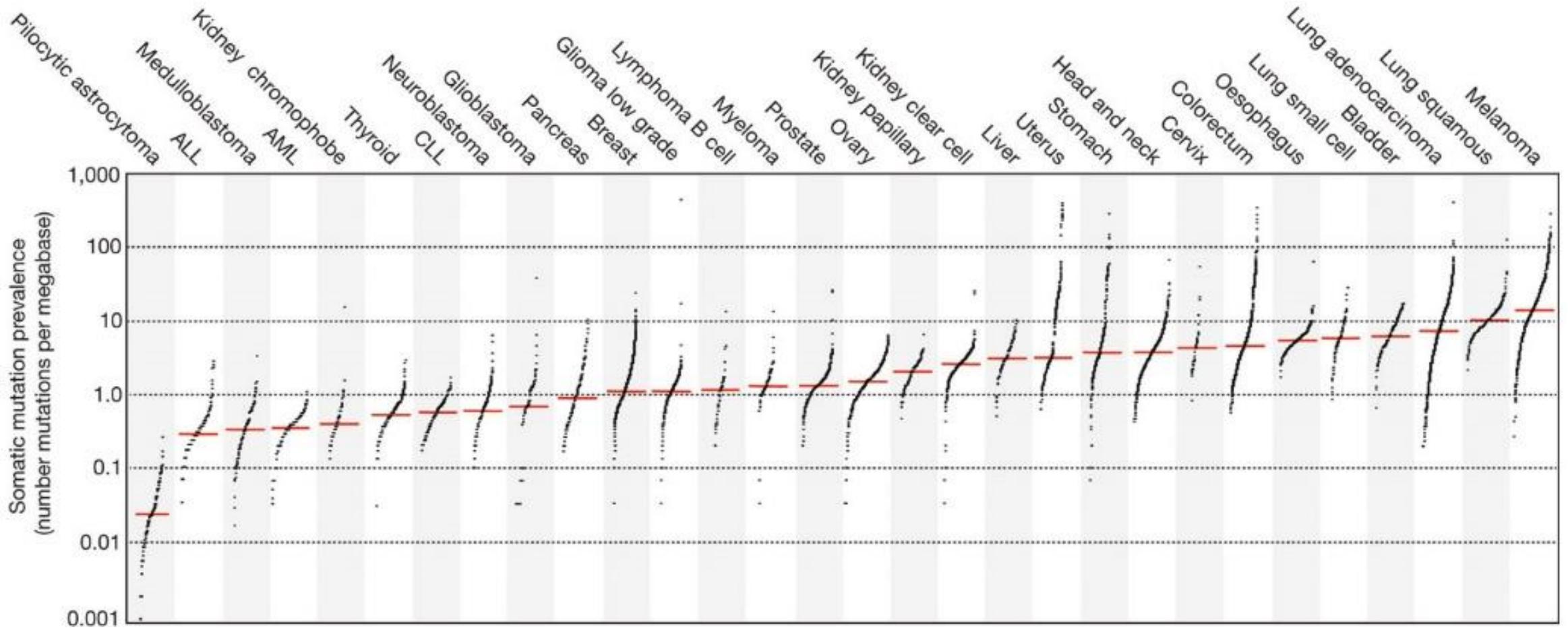
Tumeurs viro-induites

Nombre total de mutations somatiques non synonymes dans l'exome tumoral

(= génome codant)

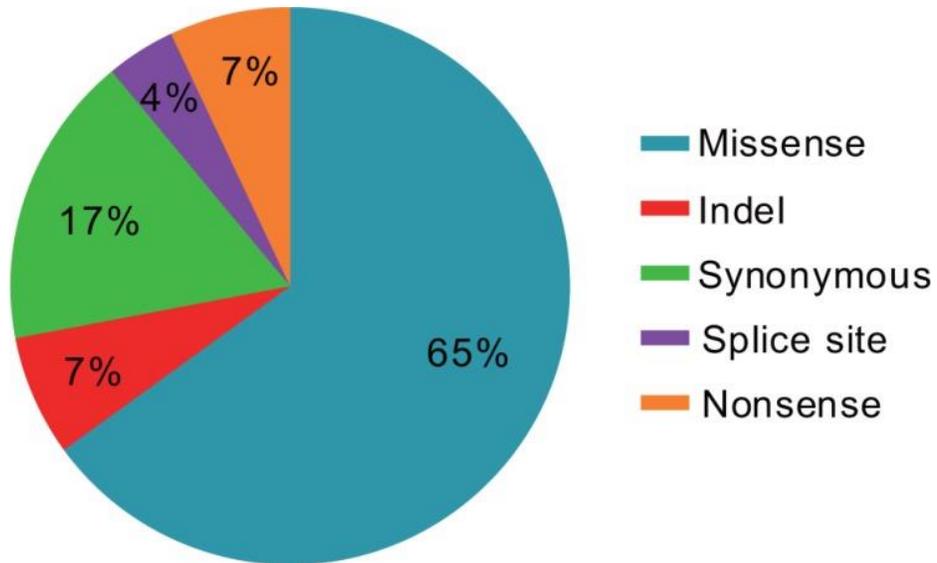


La charge mutationnelle (Tumor Mutational Burden)



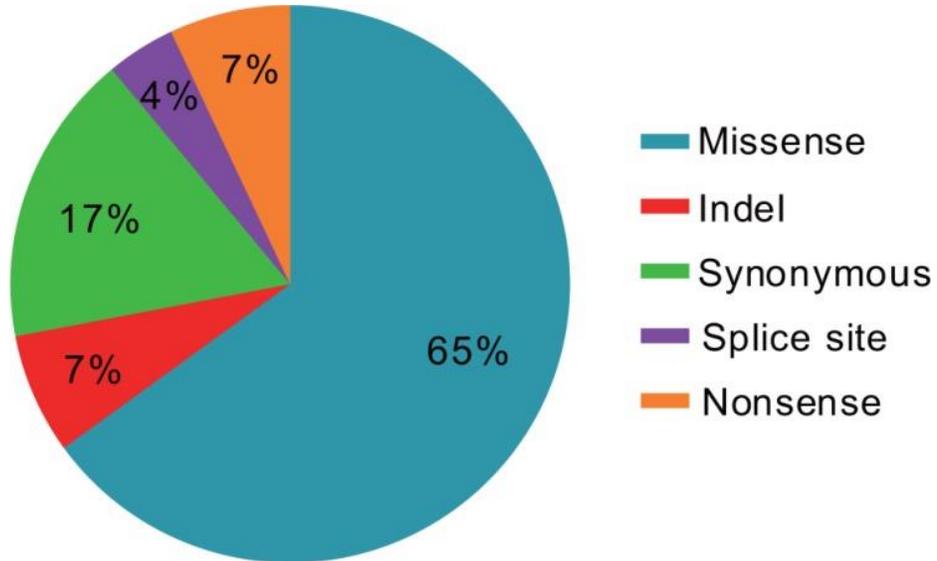


Facteurs prédictifs de TMB élevé ?





Facteurs prédictifs de TMB élevé ?



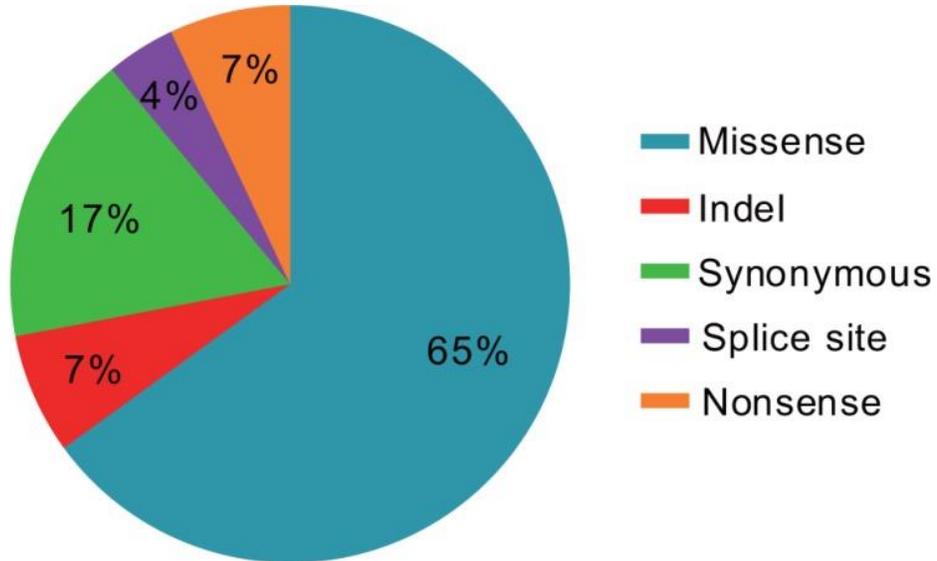
No. of patients No. of total mutations median (range)

	No. of patients	No. of total mutations median (range)	<i>p</i> value
Gender			
Female	152	2 (0–24)	(reference)
Male	183	3 (0–34)	9.64E–07
Age			
< 65	228	2 (0–34)	(reference)
≥ 65	107	2 (0–32)	0.616
Smoking			
No	199	2 (0–32)	(reference)
Yes	105	3 (0–34)	0.00139
NA	31		
Stage			
I	82	2 (0–32)	(reference)
II	69	2 (0–22)	0.378
III	154	2 (0–24)	0.893
IV	29	2(0–34)	0.541
NA	1		

0.6 MMb
10.5 MMb



Facteurs prédictifs de TMB élevé ?



No. of patients No. of total mutations median (range)

	No. of patients	No. of total mutations median (range)	<i>p</i> value
Gender			
Female	152	2 (0–24)	(reference)
Male	183	3 (0–34)	9.64E–07
Age			
< 65	228	2 (0–34)	(reference)
≥ 65	107	2 (0–32)	0.616
Smoking			
No	199	2 (0–32)	(reference)
Yes	105	3 (0–34)	0.00139
NA	31		
Stage			
I	82	2 (0–32)	(reference)
II	69	2 (0–22)	0.378
III	154	2 (0–24)	0.893
IV	29	2(0–34)	0.541
NA	1		

0.6 MMb
10.5 MMb



Facteurs prédictifs de TMB élevé ?

Histologie	TMB médian
Adénocarcinome	6.3 MMb
C. épidermoïde	9.9 MMb
NOS	11 MMb
C. petites cellules	10.3 MMb



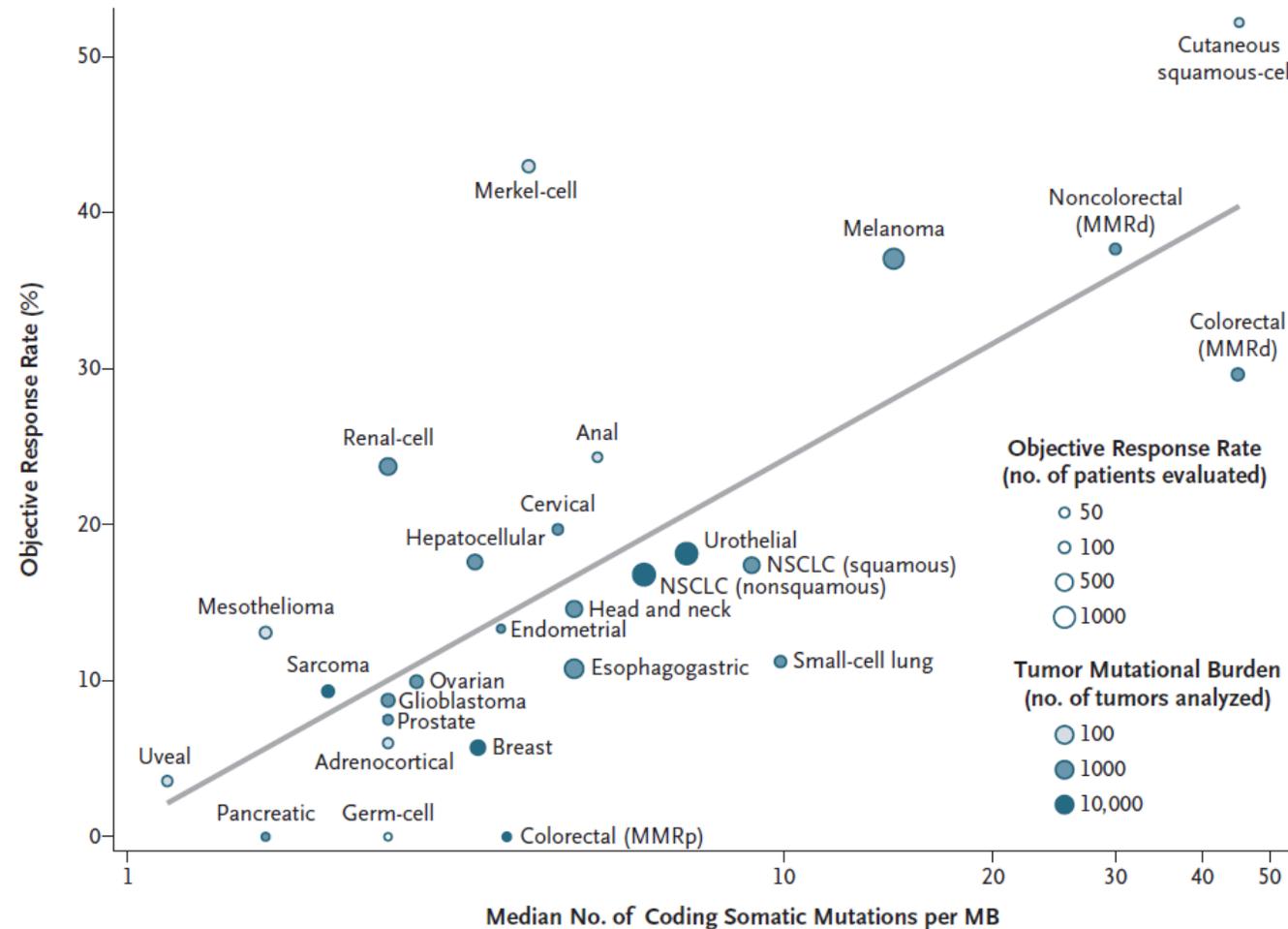
Facteurs prédictifs de TMB élevé ?

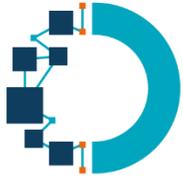
Histologie	TMB médian
Adénocarcinome	6.3 MMb
C. épidermoïde	9.9 MMb
NOS	11 MMb
C. petites cellules	10.3 MMb

Mutation	TMB médian
<i>EGFR</i>	3.8 MMb
<i>ALK</i>	2.5 MMb
<i>ROS1</i>	3.6 MMb
<i>BRAF</i>	V600E : 3.8 MMb
	Autres : 9 MMb
<i>MET</i> exon 14	4.5 MMb
<i>KRAS</i>	10.3 MMb

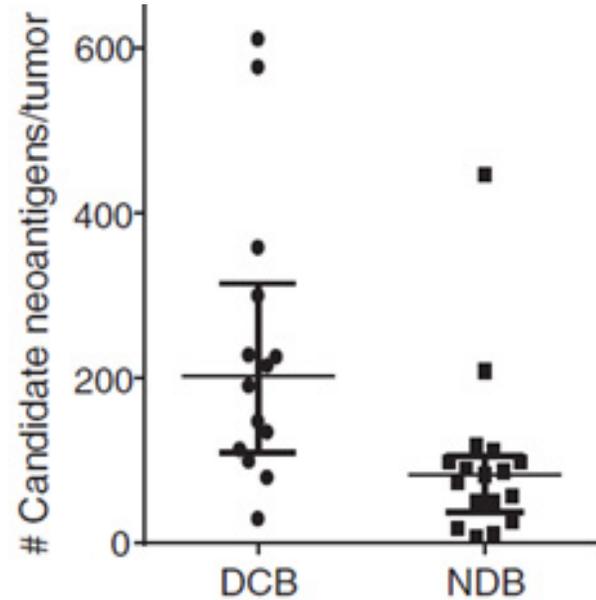


Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?



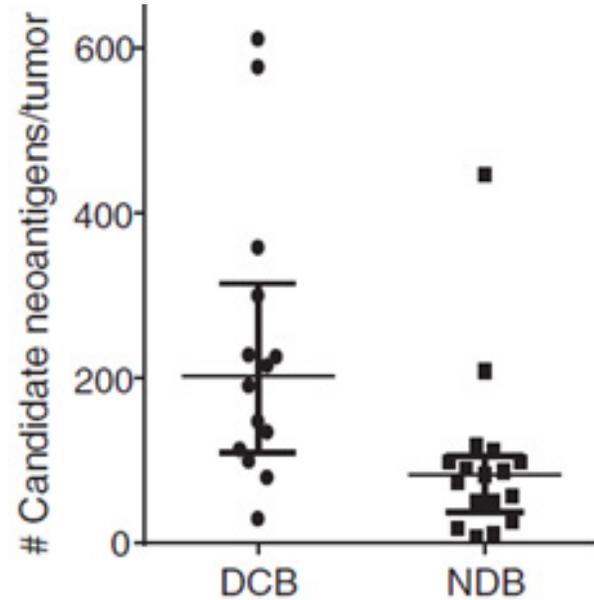


Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?





Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?



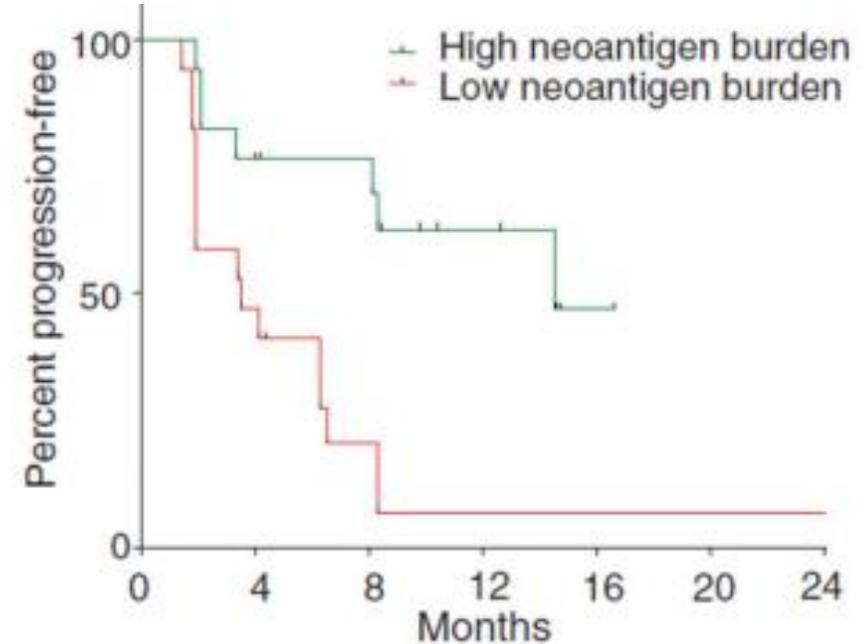
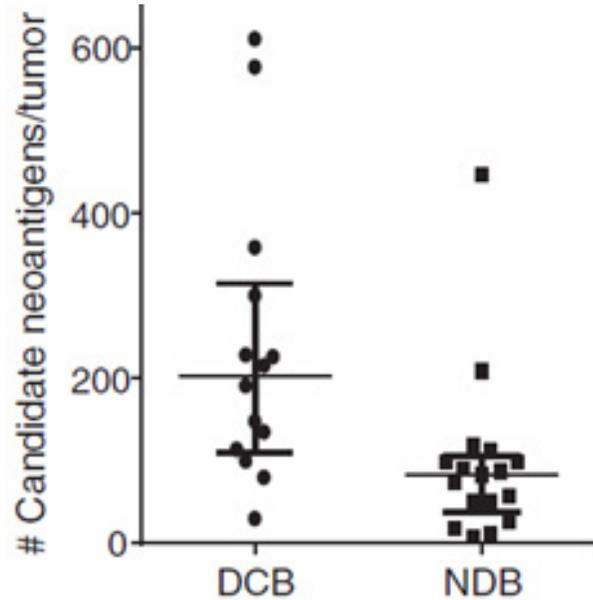
Seuil de 200 mutations

DCB (PR/SD > 6 mois) de 83% vs 22% (p=0.04)

ORR de 63% vs 0%



Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?



Seuil de 200 mutations

DCB (PR/SD > 6 mois) de 83% vs 22% (p=0.04)

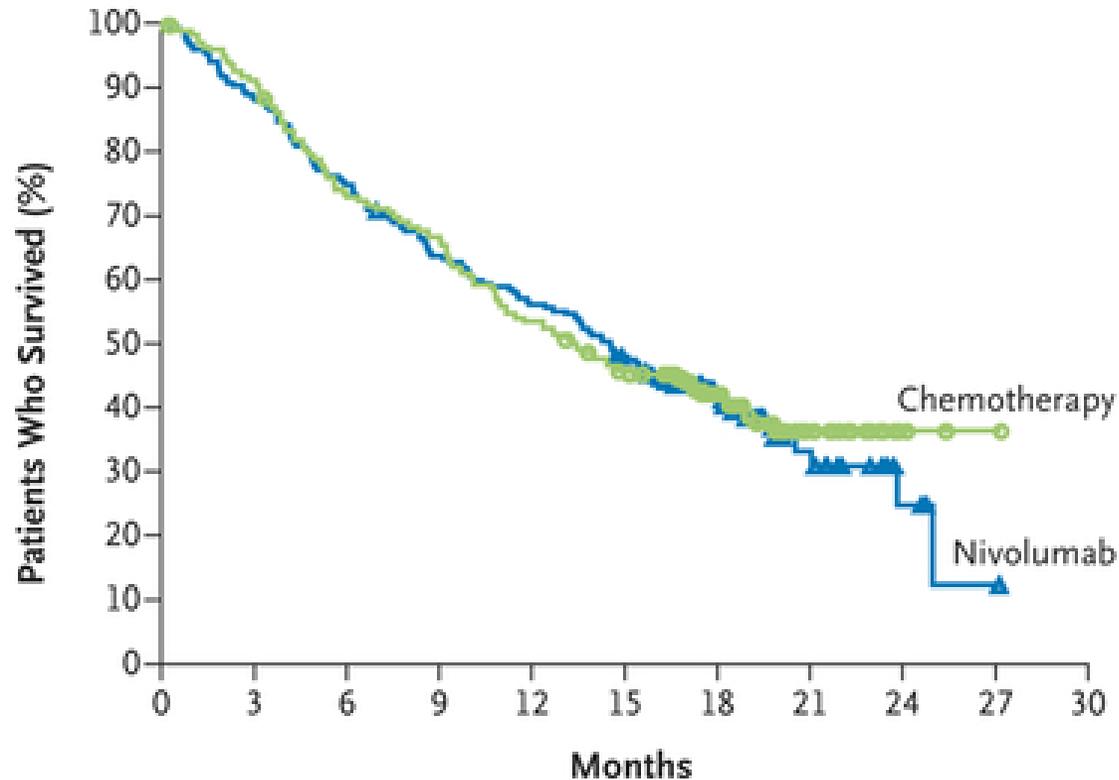
ORR de 63% vs 0%

SSP médiane : 14.5 mois vs 3.7 mois (HR 0.19)



Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

- Checkmate-026 : nivolumab versus chimiothérapie en 1ère ligne dans les CBNPC avancés PD-L1 $\geq 1\%$



	Median Overall Survival (95% CI) <i>mo</i>	1-Yr Overall Survival Rate %
Nivolumab (N=211)	14.4 (11.7–17.4)	56
Chemotherapy (N=212)	13.2 (10.7–17.1)	54

Hazard ratio for death, 1.02 (95% CI, 0.80–1.30)



Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

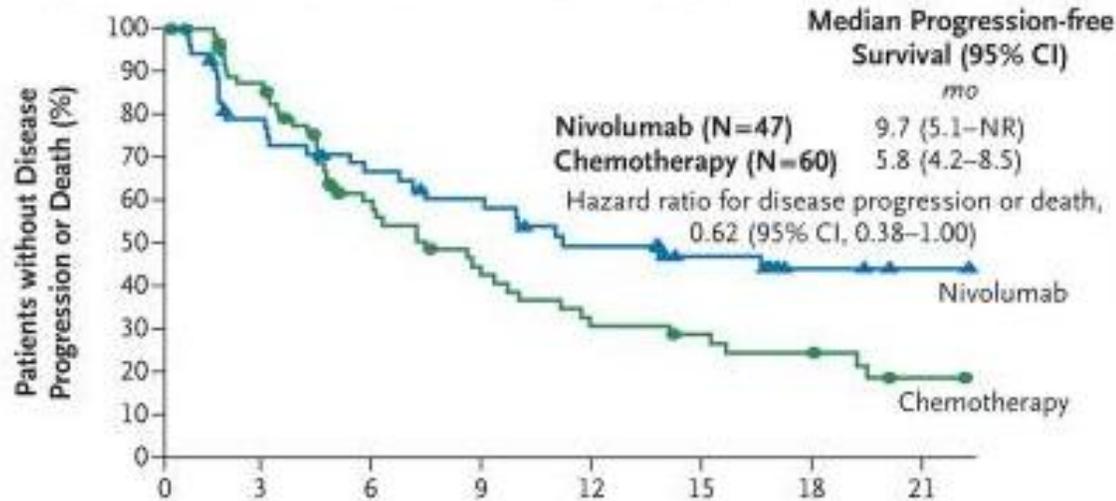
- Stratification sur le TMB ≤ 99 vs 100 à 242 vs ≥ 243 mutations
- ORR : 28.3% versus 46.8% respectivement



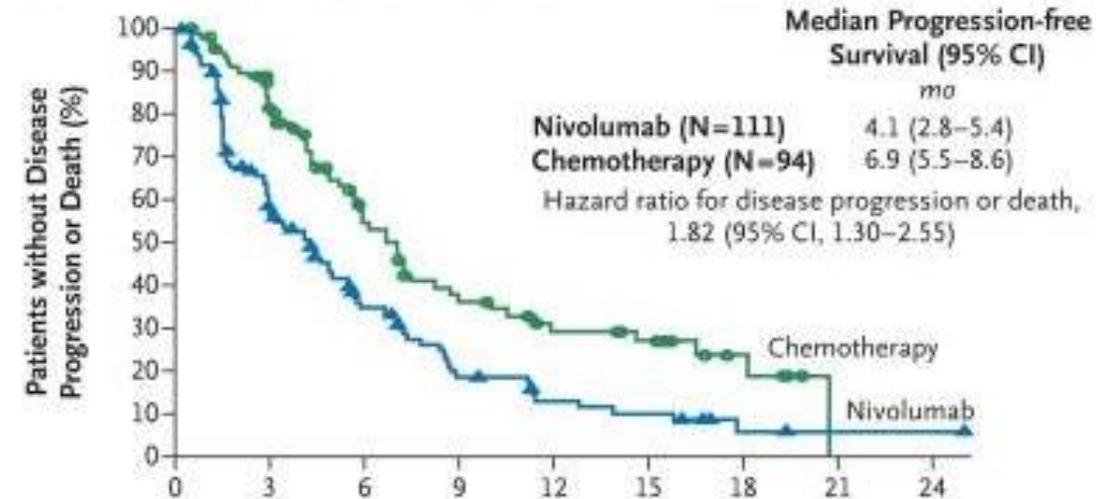
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

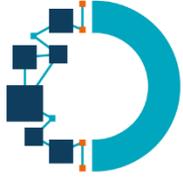
- Stratification sur le TMB ≤ 99 vs 100 à 242 vs ≥ 243 mutations
- ORR : 28.3% versus 46.8% respectivement

Progression-free Survival among Patients with High Tumor-Mutation Burden



Progression-free Survival among Patients with Low or Medium Tumor-Mutation Burden





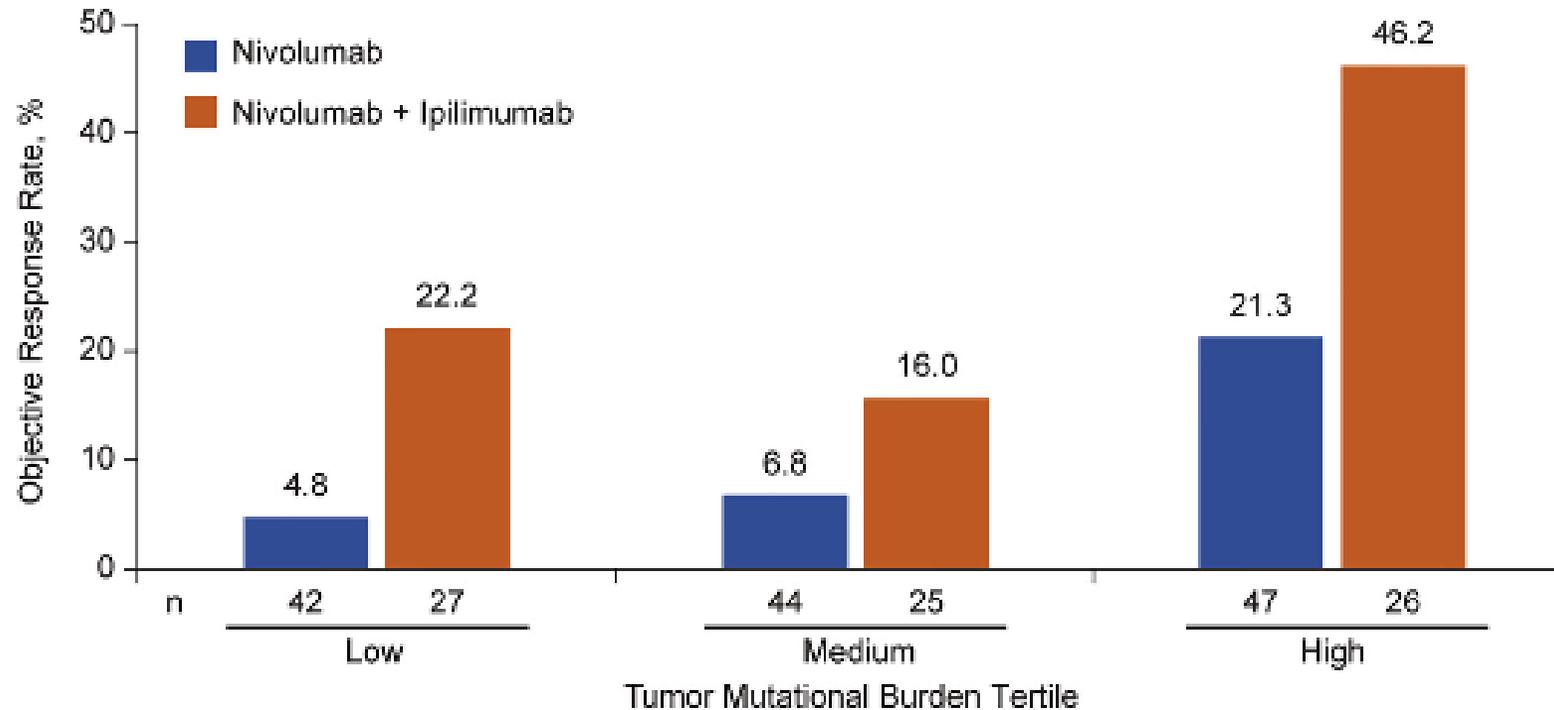
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

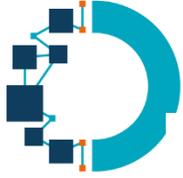
- Checkmate-032 : nivolumab/ipilimumab versus chimiothérapie en 2ème ligne dans les CBNPC avancés



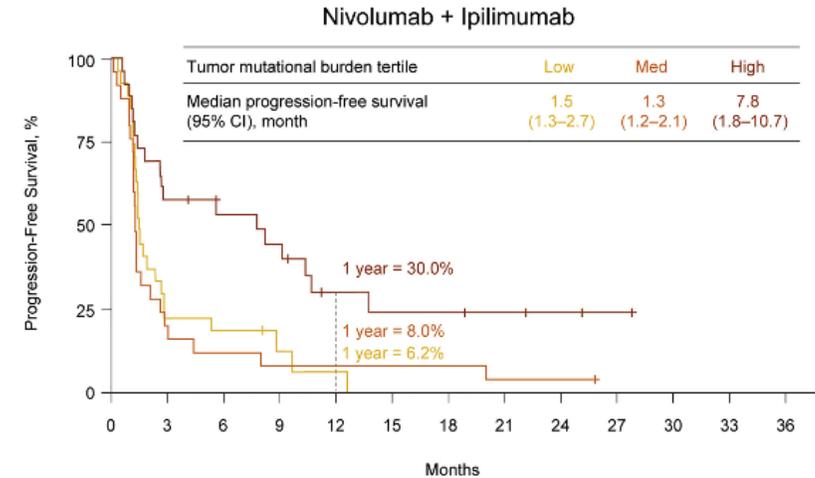
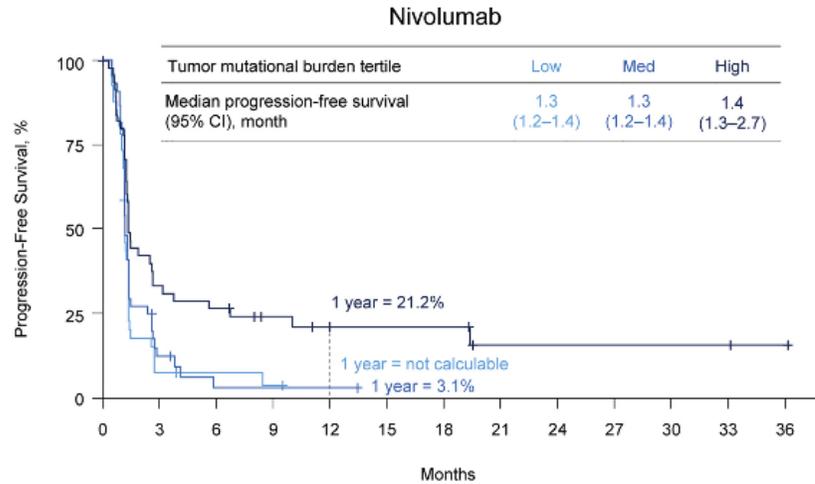
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

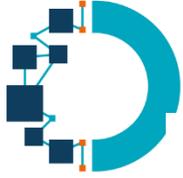
- Checkmate-032 : nivolumab/ipilimumab versus chimiothérapie en 2ème ligne dans les CBNPC avancés



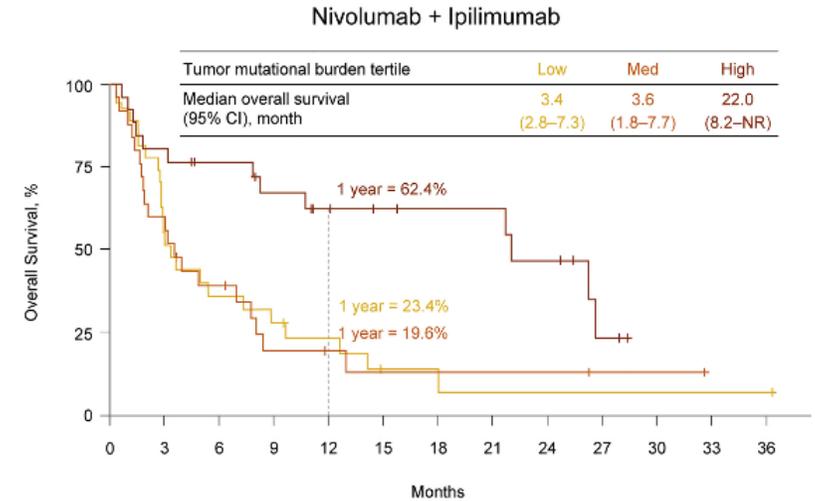
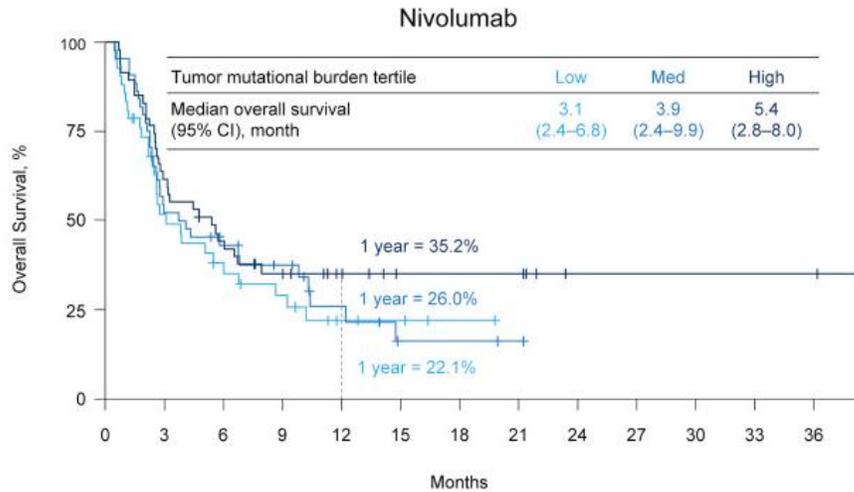
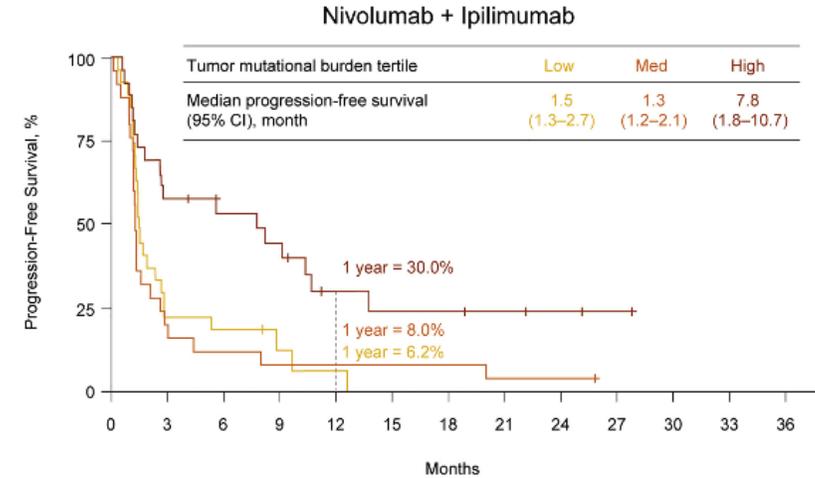
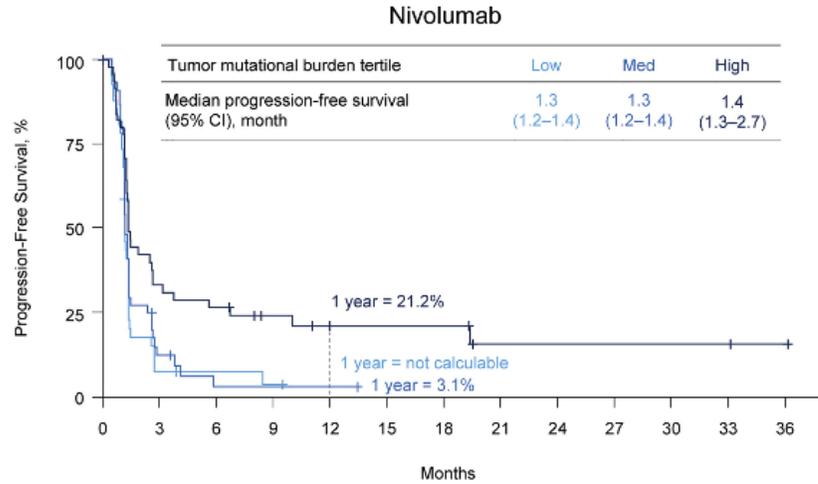


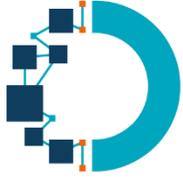
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?





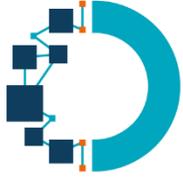
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?





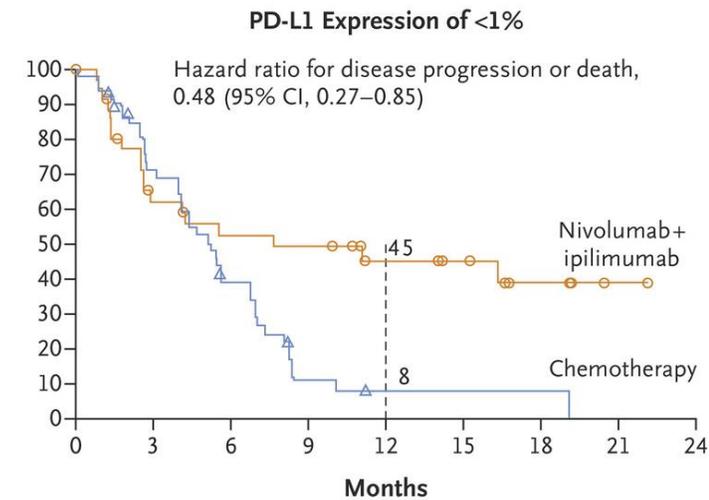
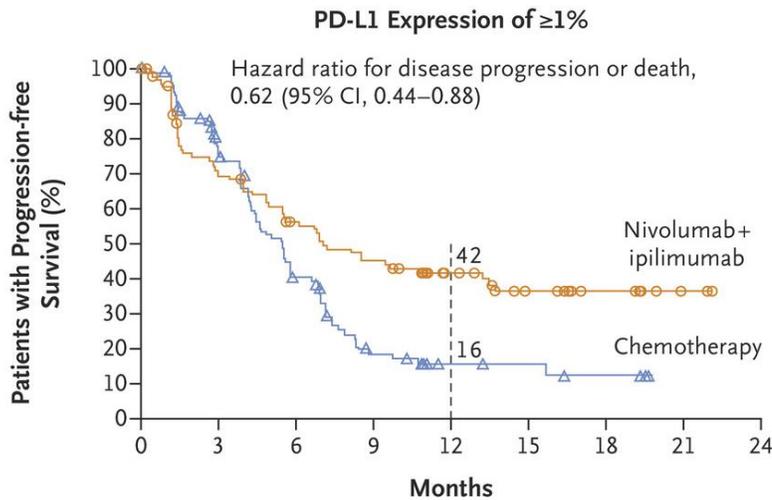
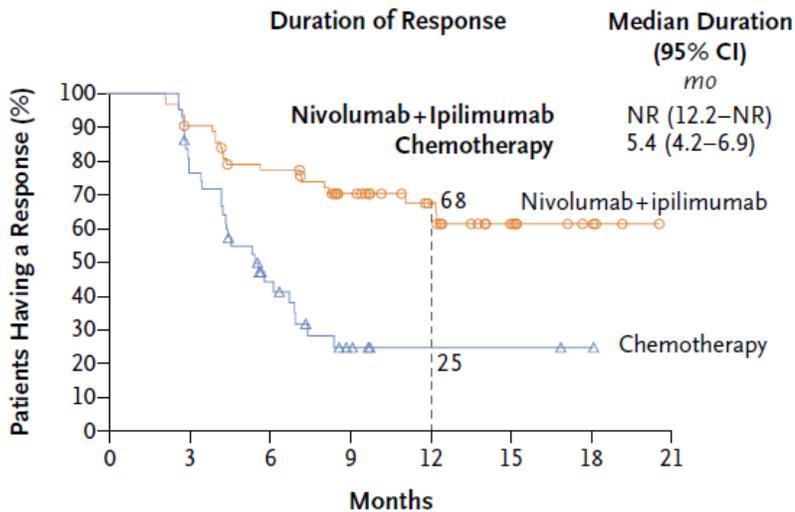
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

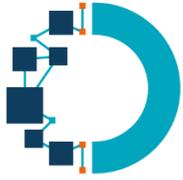
- Checkmate-227 : nivolumab/ipilimumab versus chimiothérapie en 1ère ligne dans les CBNPC avancés PD-L1 \geq 1%
- Chez les TMB^{high} :



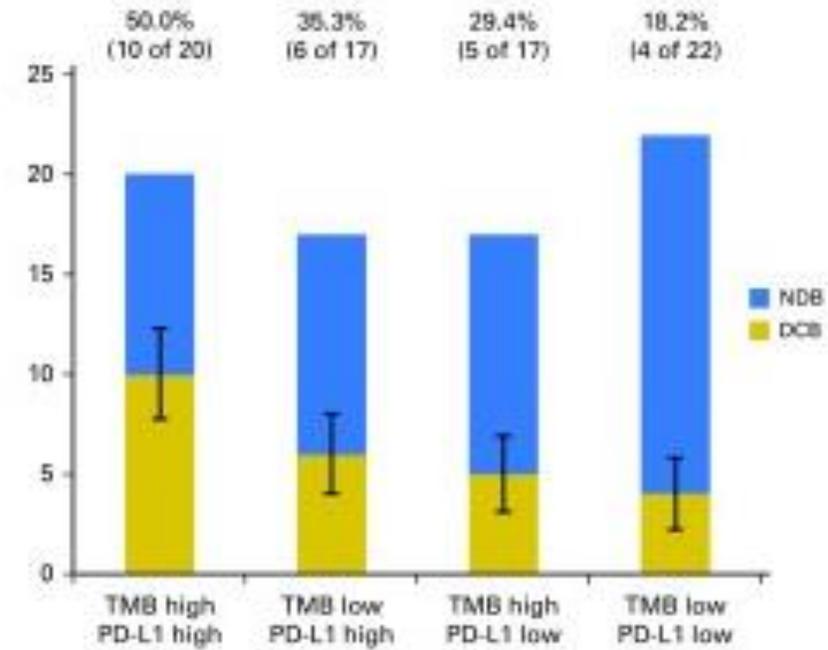
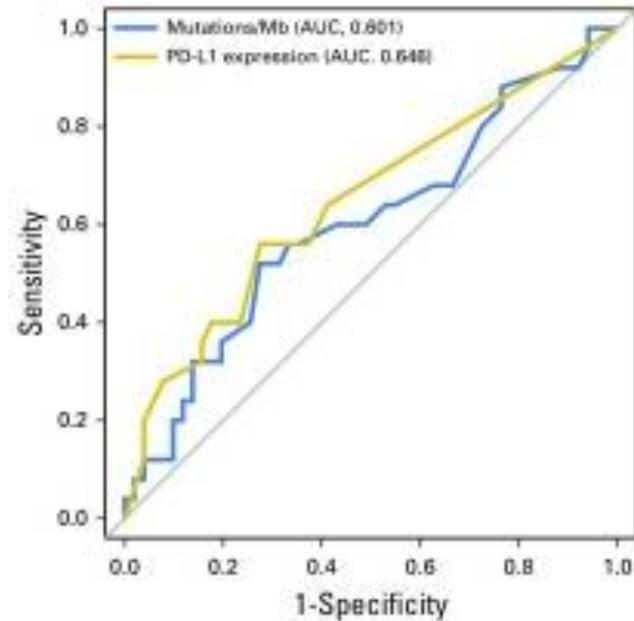
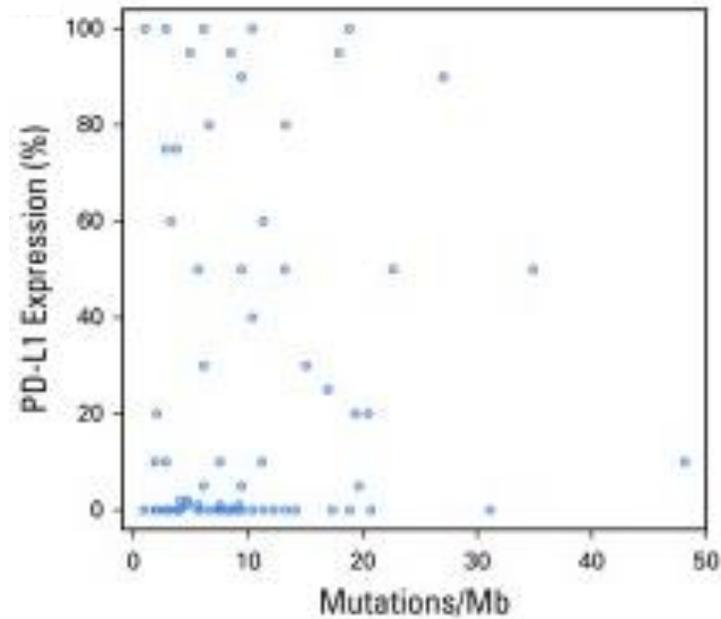
Biomarqueur prédictif de réponse aux ICI ?

- Checkmate-227 : nivolumab/ipilimumab versus chimiothérapie en 1ère ligne dans les CBNPC avancés PD-L1 $\geq 1\%$
- Chez les TMB^{high} :





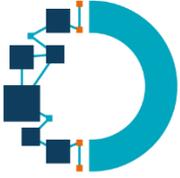
Corrélation avec PD-L1 ?





Comment mesurer le TMB ?

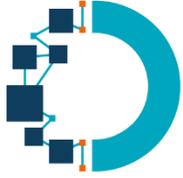
- Historiquement : Whole Exome Sequencing (WES)
- Mutations somatiques dans l'exome entier (2% de l'ensemble du génome humain) soient 30 à 50 Mb
- Délai d'obtention de 4 à 6 semaines
- 150 à 250 ng d'ADN génomique donc difficile si petite biopsie
- Limites multiples : coût, délai, prélèvements fixés en formol, disponibilité du tissu



Comment mesurer le TMB ?

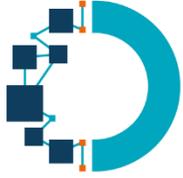
- Historiquement : Whole Exome Sequencing (WES)
- Mutations somatiques dans l'exome entier (2% de l'ensemble du génome humain) soient 30 à 50 Mb
- Délai d'obtention de 4 à 6 semaines
- 150 à 250 ng d'ADN génomique donc difficile si petite biopsie
- Limites multiples : coût, délai, prélèvements fixés en formol, disponibilité du tissu

→ *difficile à implémenter en routine clinique*



Comment mesurer le TMB ?

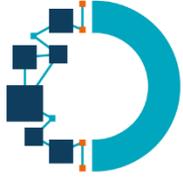
- Maintenant : panels de gènes en NGS



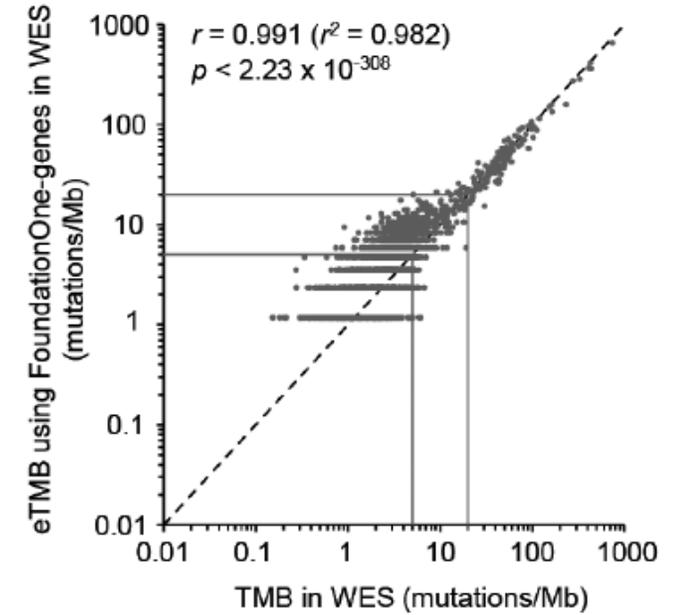
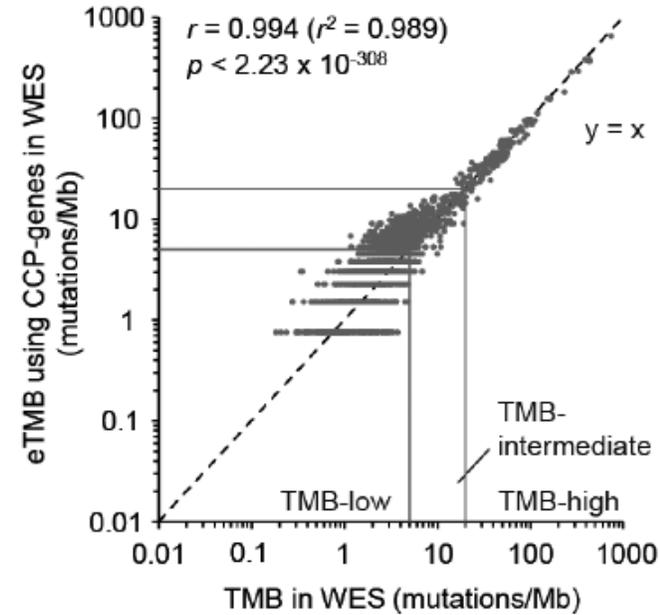
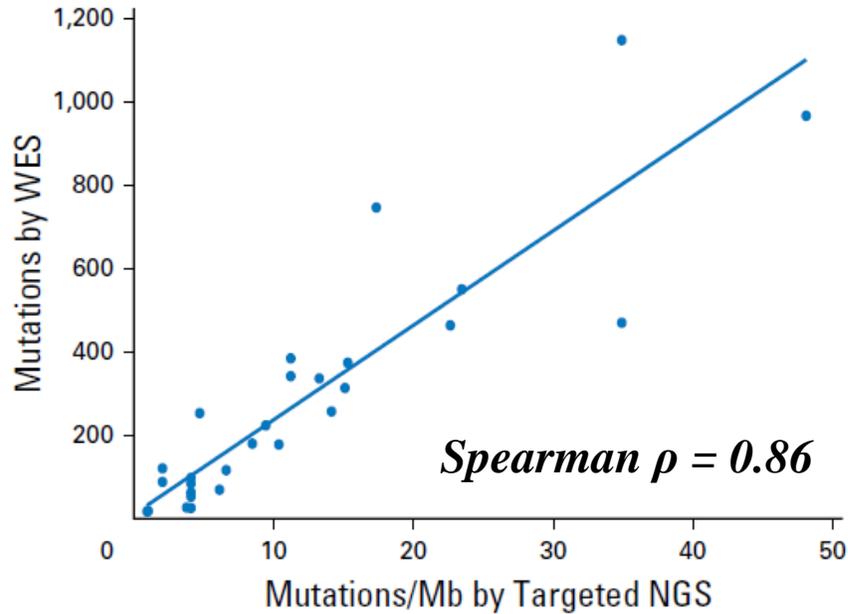
Comment mesurer le TMB ?

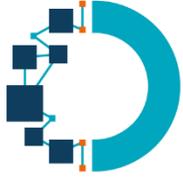
- Maintenant : panels de gènes en NGS

Panel	Diagnostic-Use/FDA approved	Chemistry	# Genes	Megabases	Threshold	Result	Study
FoundationOne CDx - Roche	Yes	Hybrid-capture-based NGS	324	1,2 Mb	YES	HIGH= ≥ 20 MUT/Mb INTERMEDIATE = 6-19 MUT/Mb LOW = 1-5 MUT/Mb	Goodman AM Mol Canc Ther 2017 Hellmann MD NEJM 2018
CGP+ - Agilent SureSelect XT - Caris Molecular Intelligence	No	Hybrid-capture-based NGS	592	1,4 Mb	YES	HIGH= ≥ 17 MUT/Mb LOW = < 17 MUT/Mb	Gatalica Z Eur Journal Canc 2018 Vandervalde A Cancer Med 2018
MSK-IMPACT	Yes	Hybrid-capture-based NGS	468	1,22 Mb	NO	MUT/Mb	Rizvi H JCO 2018
TruSight Tumor 170 - ILLUMINA	No	Hybrid-capture-based NGS	170	0,524 Mb	NO	MUT/Mb	<i>In silico</i> analyses
OncoPrint™ Tumor Mutation Load Assay - ThermoFisher Scientific	No	Amplicon-based NGS	409	1,7 Mb	NO	MUT/Mb	<i>In silico</i> analyses



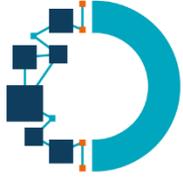
WES versus panels NGS





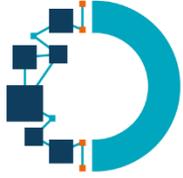
Challenges de l'analyse du TMB

- Prélèvements fixés en formol : artéfacts de séquençage (ponts entre les acides nucléiques/protéines, déamination des cytosines) → bruit de fond



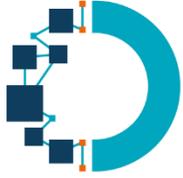
Challenges de l'analyse du TMB

- Prélèvements fixés en formol : artéfacts de séquençage (ponts entre les acides nucléiques/protéines, déamination des cytosines) → bruit de fond
- Séquençage minimal requis pour limiter les variations de mesure ≥ 0.5 à 1 Mb



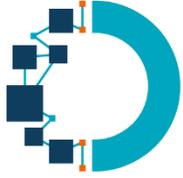
Challenges de l'analyse du TMB

- Prélèvements fixés en formol : artéfacts de séquençage (ponts entre les acides nucléiques/protéines, déamination des cytosines) → bruit de fond
- Séquençage minimal requis pour limiter les variations de mesure ≥ 0.5 à 1 Mb
- 5 à 10 x plus cher que PD-L1 (2200 à 4400 €) et 10 x plus d'équipements nécessaires



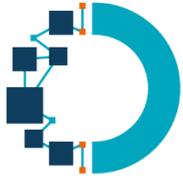
Challenges de l'analyse du TMB

- Prélèvements fixés en formol : artéfacts de séquençage (ponts entre les acides nucléiques/protéines, déamination des cytosines) → bruit de fond
- Séquençage minimal requis pour limiter les variations de mesure ≥ 0.5 à 1 Mb
- 5 à 10 x plus cher que PD-L1 (2200 à 4400 €) et 10 x plus d'équipements nécessaires
- **Consommateur de matériel tumoral**
 - Foundation One : 1 bloc FFPE ou 10 lames de 4-5 μm avec $\geq 20\%$ cellules tumorales et 25 mm^2 de surface pour au moins 50 ng d'ADN
 - Etude Checkmate-568 : 88% de tumeurs évaluable pour PD-L1, contre seulement 34% pour le TMB



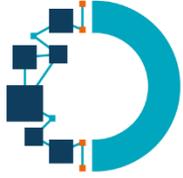
Challenges de l'analyse du TMB

- Prélèvements fixés en formol : artéfacts de séquençage (ponts entre les acides nucléiques/protéines, déamination des cytosines) → bruit de fond
- Séquençage minimal requis pour limiter les variations de mesure ≥ 0.5 à 1 Mb
- 5 à 10 x plus cher que PD-L1 (2200 à 4400 €) et 10 x plus d'équipements nécessaires
- Consommateur de matériel tumoral
 - Foundation One : 1 bloc FFPE ou 10 lames de 4-5 μm avec $\geq 20\%$ cellules tumorales et 25 mm^2 de surface pour au moins 50 ng d'ADN
 - Etude Checkmate-568 : 88% de tumeurs évaluable pour PD-L1, contre seulement 34% pour le TMB
- Délai de 2 semaines



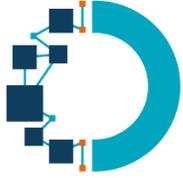
Challenges de l'analyse du TMB

- Prélèvements fixés en formol : artéfacts de séquençage (ponts entre les acides nucléiques/protéines, déamination des cytosines) → bruit de fond
- Séquençage minimal requis pour limiter les variations de mesure ≥ 0.5 à 1 Mb
- 5 à 10 x plus cher que PD-L1 (2200 à 4400 €) et 10 x plus d'équipements nécessaires
- Consommateur de matériel tumoral
 - Foundation One : 1 bloc FFPE ou 10 lames de 4-5 μm avec $\geq 20\%$ cellules tumorales et 25 mm^2 de surface pour au moins 50 ng d'ADN
 - Etude Checkmate-568 : 88% de tumeurs évaluables pour PD-L1, contre seulement 34% pour le TMB
- Délai de 2 semaines
- Stockage des données (big data)



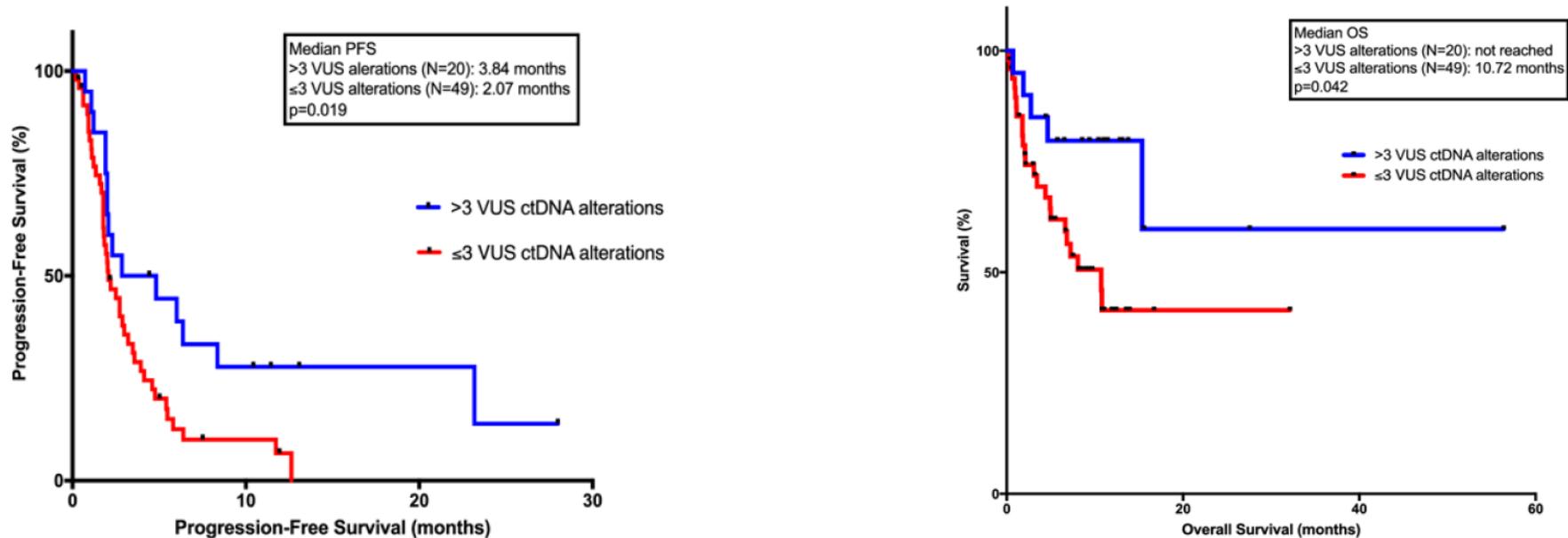
Tumeur ou ADN tumoral circulant ?

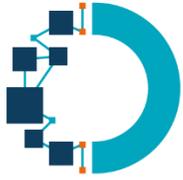
- Bonne corrélation entre le tTMB et le bTMB : 64 à 81.5% de concordance
- Corrélation avec la réponse aux immunothérapies



Tumeur ou ADN tumoral circulant ?

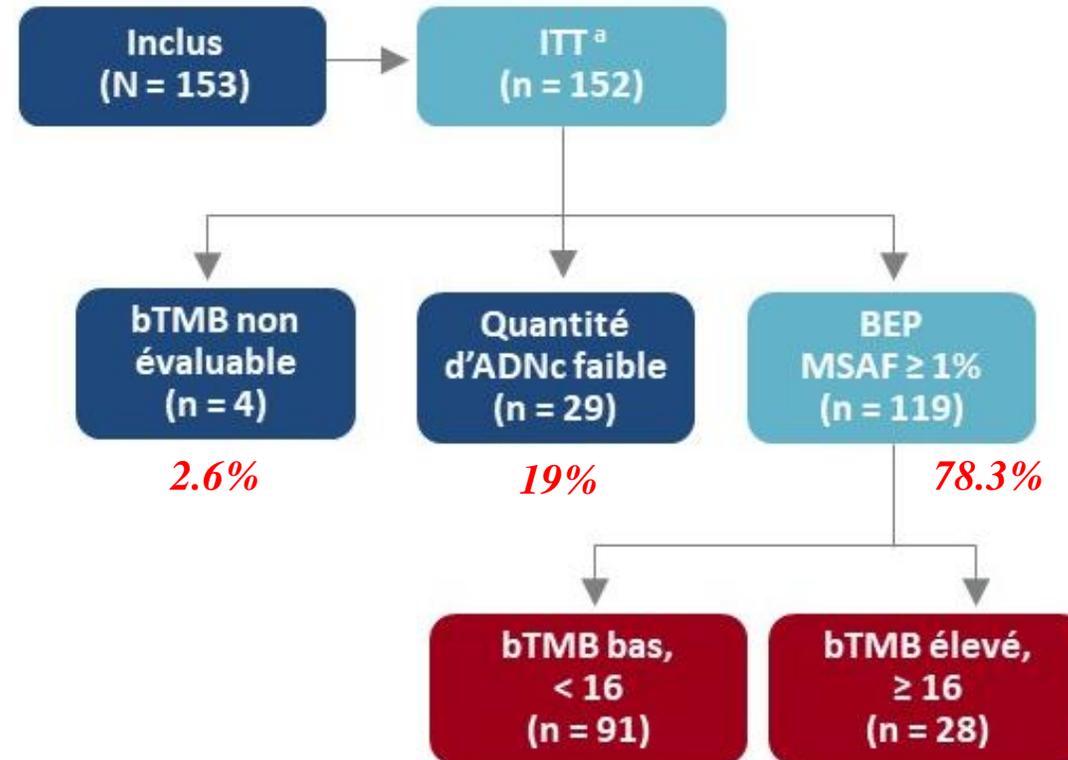
- Bonne corrélation entre le tTMB et le bTMB : 64 à 81.5% de concordance
- Corrélation avec la réponse aux immunothérapies

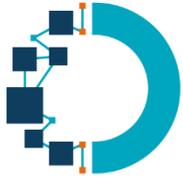




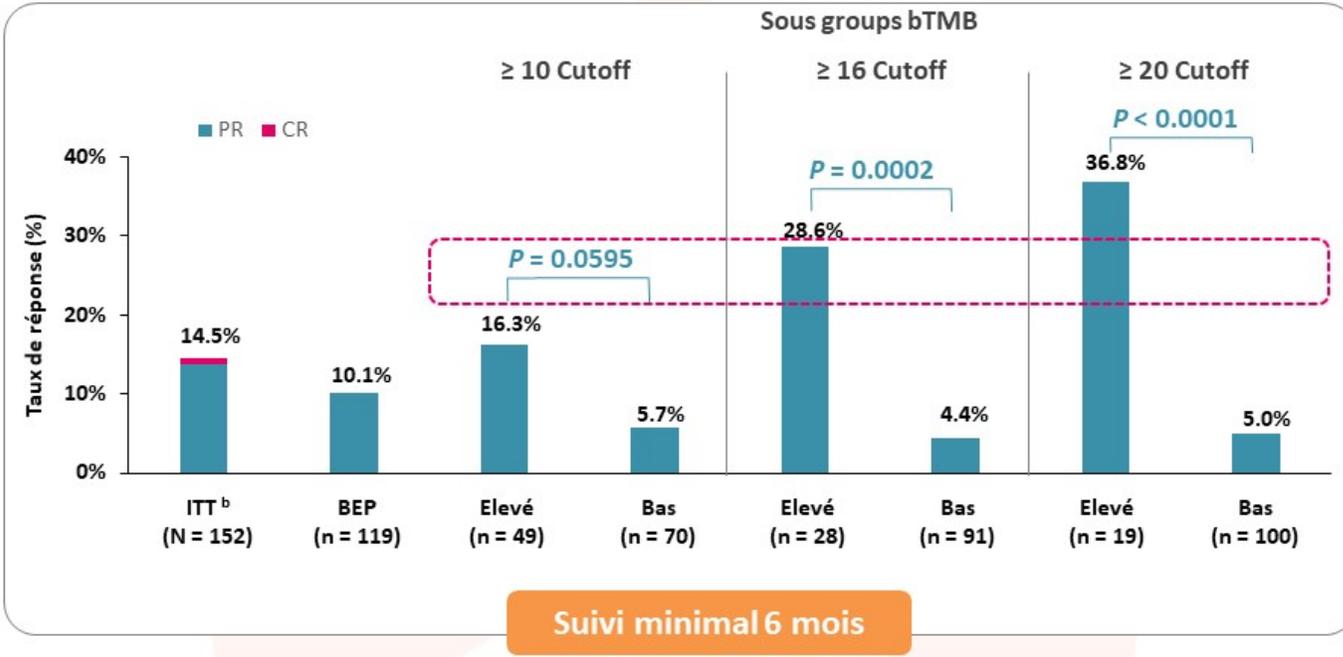
Tumeur ou ADN tumoral circulant ?

- B-F1RST : atézolizumab en 1ère ligne dans les NSCLC avancés

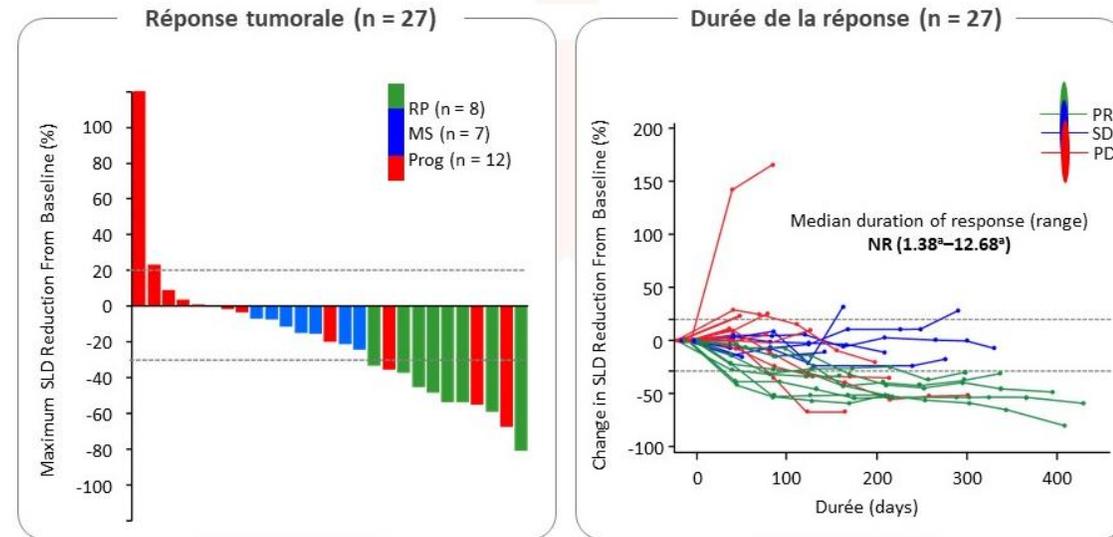


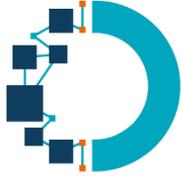


Tumeur ou ADN tumoral circulant ?



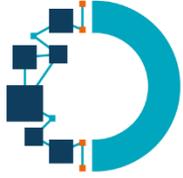
B-F1RST: Réponse à l'atézolizumab en cas de bTMB ≥ 16





Conclusions

- Biomarqueur prédictif de réponse aux immunothérapies indépendant de PD-L1
- Puissance insuffisante lorsqu'utilisé seul
- Limites multiples : coût, délai, panels, seuils
- Biomarqueurs prédictifs de NON-réponse ? d'hyperprogression ?
- Place des signatures immunologiques



Conclusions

- Biomarqueur prédictif de réponse aux immunothérapies indépendant de PD-L1
- Puissance insuffisante lorsqu'utilisé seul
- Limites multiples : coût, délai, panels, seuils
- Biomarqueurs prédictifs de NON-réponse ? d'hype
- Place des signatures immunologiques

