Académie d'Orléans-Tours
Université François-Rabelais

FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

Année 2014-2015 **N°**

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

Julia ZARAGOZA

Née le 15/10/1986 à Saint Jean de Braye (45)

Présentée et soutenue publiquement le 20 Avril 2015 à 18 heures

TITRE

Un ratio neutrophiles / lymphocytes élevé est associé à une survie plus courte chez les patients ayant un mélanome métastatique traités par ipilimumab

Jury

Président : **Monsieur le Professeur Gilles CALAIS**
Membres : **Monsieur le Professeur Laurent MACHET**
Madame le Professeur Annabel MARUANI
Madame le Docteur Mahtab SAMIMI
Madame le Docteur Agnès CAILLE

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN
Professeur Patrice DIOT

VICE-DOYEN
Professeur Henri MARRET

ASSESSEURS
Professeur Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Professeur Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Professeur Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*
Professeur Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*
Professeur François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Professeur Philippe ROINGEARD, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE
Madame Fanny BOBLETER

****

DOYENS HONORAIRES
Professeur Emile ARON (†) – *1962-1966*
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Professeur Georges DESBUQUOIS (†)- *1966-1972*
Professeur André GOUAZÉ - *1972-1994*
Professeur Jean-Claude ROLLAND – *1994-2004*
Professeur Dominique PERROTIN – *2004-2014*

PROFESSEURS EMERITES
Professeur Alain AUTRET
Professeur Catherine BARTHELEMY
Professeur Jean-Claude BESNARD
Professeur Patrick CHOUTET
Professeur Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Professeur Guy GINIES
Professeur Olivier LE FLOCH
Professeur Etienne LEMARIE
Professeur Chantal MAURAGE
Professeur Léandre POURCELOT
Professeur Michel ROBERT
Professeur Jean-Claude ROLLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Ph. ANTHONIOZ - A. AUDURIER – Ph. BAGROS - G. BALLON – P.BARDOS - J. BARSOTTI
A. BENATRE - Ch. BERGER –J. BRIZON - Mme M. BROCHIER - Ph. BURDIN - L. CASTELLANI
J.P. FAUCHIER - B. GRENIER – A. GOUAZE – M. JAN – J.-P. LAMAGNERE - F. LAMISSE –
J.LANSAC – J.LAUGIER - G. LELORD - G. LEROY - Y. LHUINTRE - M. MAILLET - Mlle C. MERCIER
J. MOLINE - Cl.MORAINE - J.P. MUH - J. MURAT - Ph. RAYNAUD – JC. ROLLAND –
Ch.ROSSAZZA - Ph. ROULEAU - A.SAINDELLE - J.J. SANTINI - D. SAUVAGE – J. THOUVENOT -
B. TOUMIEUX - J. WEILL.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM. ALISON Daniel ..... Radiologie et Imagerie médicale
ANDRES Christian ..... Biochimie et Biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis ..... Cardiologie
ARBEILLE Philippe ..... Biophysique et Médecine nucléaire
AUPART Michel ..... Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique ..... Cardiologie
BALLON Nicolas ..... Psychiatrie ; Addictologie
Mme BARILLOT Isabelle ..... Cancérologie ; Radiothérapie
MM. BERNARD Louis ..... Maladies infectieuses ; maladies tropicales
BEUTTER Patrice ..... Oto-Rhino-Laryngologie
BINET Christian ..... Hématologie ; Transfusion
BODY Gilles ..... Gynécologie et Obstétrique
BONNARD Christian ..... Chirurgie infantile
BONNET Pierre ..... Physiologie
Mme BONNET-BRILHAULT Frédérique ..... Physiologie
MM. BOUGNOUX Philippe ..... Cancérologie ; Radiothérapie
BRILHAULT Jean ..... Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent ..... Radiologie et Imagerie médicale
BRUYERE Franck ..... Urologie
BUCHLER Matthias ..... Néphrologie
CALAIS Gilles ..... Cancérologie ; Radiothérapie
CAMUS Vincent ..... Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques ..... Parasitologie et Mycologie
CHANTEPIE Alain ..... Pédiatrie
COLOMBAT Philippe ..... Hématologie ; Transfusion
CONSTANS Thierry ..... Médecine interne ; Gériatrie et Biologie du vieillissement
CORCIA Philippe ..... Neurologie
COSNAY Pierre ..... Cardiologie
COTTIER Jean-Philippe ..... Radiologie et Imagerie médicale
COUET Charles ..... Nutrition
DANQUECHIN DORVAL Etienne ..... Gastroentérologie ; Hépatologie
DE LA LANDE DE CALAN Loïc ..... Chirurgie digestive
DE TOFFOL Bertrand ..... Neurologie
DEQUIN Pierre-François ..... Thérapeutique ; médecine d'urgence
DESTRIEUX Christophe ..... Anatomie
DIOT Patrice ..... Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague . Anatomie & Cytologie pathologiques
DUMONT Pascal ..... Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam ..... Psychiatrie adultes
FAUCHIER Laurent ..... Cardiologie
FAVARD Luc ..... Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard ..... Médecine physique et de Réadaptation
FRANCOIS Patrick ..... Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle ..... Anatomie & Cytologie pathologiques
FUSCIARDI Jacques ..... Anesthésiologie et Réanimation chirurgical ; médecine d'urgence
GAILLARD Philippe ..... Psychiatrie d'Adultes
GYAN Emmanuel..... Hématologie ; thérapie cellulaire
GOGA Dominique ..... Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
GOUDEAU Alain ..... Bactériologie -Virologie ; Hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe ..... Rhumatologie
GRUEL Yves ..... Hématologie ; Transfusion
GUERIF Fabrice ..... Biologie et Médecine du développement et de la reproduction
GUILMOT Jean-Louis ..... Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
GUYETANT Serge ..... Anatomie et Cytologie pathologiques
HAILLOT Olivier ..... Urologie
HALIMI Jean-Michel ..... Thérapeutique ; médecine d'urgence (Néphrologie et Immunologie clinique)
HANKARD Régis ..... Pédiatrie
HERAULT Olivier ..... Hématologie ; transfusion
HERBRETEAU Denis ..... Radiologie et Imagerie médicale
Mme HOMMET Caroline ..... Médecine interne, Gériatrie et Biologie du vieillissement
MM. HUTEN Noël ..... Chirurgie générale
LABARTHE François ..... Pédiatrie
LAFFON Marc ..... Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
LARDY Hubert ..... Chirurgie infantile
LASFARGUES Gérard ..... Médecine et Santé au Travail
LAURE Boris ..... Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

LEBRANCHU Yvon ..... Immunologie
LECOMTE Thierry ..... Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
LESCANNE Emmanuel ..... Oto-Rhino-Laryngologie
LINASSIER Claude ..... Cancérologie ; Radiothérapie
LORETTE Gérard ..... Dermato-Vénéréologie
MACHET Laurent ..... Dermato-Vénéréologie
MAILLOT François ..... Médecine Interne
MARCHAND-ADAM Sylvain ..... Pneumologie
MARRET Henri ..... Gynécologie et Obstétrique
MARUANI Annabel ..... Dermatologie
MEREGHETTI Laurent ..... Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain ..... O.R.L.
MULLEMAN Denis ..... Rhumatologie
PAGES Jean-Christophe ..... Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles ..... Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique
PATAT Frédéric ..... Biophysique et Médecine nucléaire
PERROTIN Dominique ..... Réanimation médicale ; médecine d'urgence
PERROTIN Franck ..... Gynécologie et Obstétrique
PISELLA Pierre-Jean ..... Ophtalmologie
QUENTIN Roland ..... Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
REMERAND Francis ..... Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale
ROBIER Alain ..... Oto-Rhino-Laryngologie
ROINGEARD Philippe ..... Biologie cellulaire
ROSSET Philippe ..... Chirurgie orthopédique et traumatologique
ROYERE Dominique ..... Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
RUSCH Emmanuel ..... Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
SALAME Ephrem ..... Chirurgie digestive
SALIBA Elie..... Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
Mme SANTIAGO-RIBEIRO Maria ..... Biophysique et Médecine Nucléaire
MM. SIRINELLI Dominique ..... Radiologie et Imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre ..... Pédiatrie
Mme TOUTAIN Annick ..... Génétique
MM. VAILLANT Loïc ..... Dermato-Vénéréologie
VELUT Stéphane ..... Anatomie
WATIER Hervé ..... Immunologie.

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

M. LEBEAU Jean-Pierre ..... Médecine Générale
Mme LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie ..... Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES

MM. MALLET Donatien ..... Soins palliatifs
POTIER Alain ..... Médecine Générale
ROBERT Jean ..... Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - **PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme ANGOULVANT Théodora ..... Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique : addictologie
M. BAKHOS David ..... Physiologie
Mme BERNARD-BRUNET Anne ..... Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
M. BERTRAND Philippe ..... Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
Mme BLANCHARD Emmanuelle ..... Biologie cellulaire
BLASCO Hélène ..... Biochimie et biologie moléculaire
M. BOISSINOT Éric ..... Physiologie
Mme CAILLE Agnès ..... Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
M. DESOUBEAUX Guillaume ..... Parasitologie et mycologie
Mme DUFOUR Diane ..... Biophysique et Médecine nucléaire
M. EHRMANN Stephan ..... Réanimation médicale
Mme FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie .. Anatomie et Cytologie pathologiques
M. GATAULT Philippe ..... Néphrologie
Mmes GAUDY-GRAFFIN Catherine ..... Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
GOUILLEUX Valérie ..... Immunologie
GUILLON-GRAMMATICO Leslie ..... Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication

MM. HOARAU Cyrille ..... Immunologie
HOURIOUX Christophe ..... Biologie cellulaire
Mmes LARTIGUE Marie-Frédérique ..... Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
LE GUELLEC Chantal ..... Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine ..... Anatomie et Cytologie pathologiques
MM. PIVER Eric ..... Biochimie et biologie moléculaire
OUMY Jérôme..... Biophysique et médecine nucléaire in vitro
Mme SAINT-MARTIN Pauline ..... Médecine légale et Droit de la santé
MM. SAMIMI Mahtab ..... Dermatologie
TERNANT David ..... Pharmacologie – toxicologie
Mme VALENTIN-DOMELIER Anne-Sophie .. Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière
M. VOURC'H Patrick..... Biochimie et Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFERENCES

Mme ESNARD Annick ..... Biologie cellulaire
M. LEMOINE Maël ..... Philosophie
Mme MONJAUZE Cécile ..... Sciences du langage - Orthophonie
M. PATIENT Romuald ..... Biologie cellulaire

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Mmes HUAS Caroline ..... Médecine Générale
RENOUX-JACQUET Cécile ..... Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS – INRA

M. BOUAKAZ Ayache ..... Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
Mmes BRUNEAU Nicole ..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie ..... Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM. CHARBONNEAU Michel ..... Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
COURTY Yves ..... Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
GAUDRAY Patrick ..... Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GILOT Philippe ..... Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice ..... Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
Mmes GOMOT Marie ..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GRANDIN Nathalie ..... Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
HEUZE-VOURCH Nathalie ..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM. KORKMAZ Brice ..... Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric ..... Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
LE PAPE Alain ..... Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
Mme MARTINEAU Joëlle ..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM. MAZURIER Frédéric ..... Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
MEUNIER Jean-Christophe ..... Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
RAOUL William ..... Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
Mme RIO Pascale ..... Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1069
M. SI TAHAR Mustapha ..... Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour la Faculté de Médecine
Mme BIRMELE Béatrice ..... Praticien Hospitalier *(éthique médicale)*
M. BOULAIN Thierry ..... Praticien Hospitalier *(CSCT)*
Mme CRINIERE Lise ..... Praticien Hospitalier *(endocrinologie)*
M. GAROT Denis ..... Praticien Hospitalier *(sémiologie)*
Mmes MAGNAN Julie ..... Praticien Hospitalier *(sémiologie)*
MERCIER Emmanuelle ..... Praticien Hospitalier *(CSCT)*

Pour l'Ecole d'Orthophonie
Mme DELORE Claire ..... Orthophoniste
MM. GOUIN Jean-Marie ..... Praticien Hospitalier
MONDON Karl ..... Praticien Hospitalier
Mme Danièle ..... Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie
Mme LALA Emmanuelle ..... Praticien Hospitalier
M. MAJZOUB Samuel..... Praticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS

Un grand merci à Monsieur le Professeur MACHET qui a accepté de m'encadrer pour cette thèse. Votre disponibilité et votre calme m'ont été d'une grande aide.
Merci pour votre soutien dans mes projets, je vous en suis sincèrement reconnaissante.
Merci de me faire partager vos connaissances, merci pour votre accessibilité et votre écoute au quotidien.

Monsieur le Professeur CALAIS, merci de me faire l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail : je suis ravie d'avoir un représentant de votre discipline dans mon jury. Merci de me soutenir dans la validation du DESC de Cancérologie qui me tient à cœur depuis le début de mon internat.

Madame le Professeur MARUANI, merci de me faire l'honneur de faire partie de mon jury et de juger mon travail. Merci de nous faire partager tes connaissances les mardis matin, merci pour ta gentillesse.

Madame le Docteur CAILLE, merci de me faire l'honneur de faire partie de mon jury et de juger mon travail. Sans toi, cette thèse n'aurait pas pu avoir lieu ! Merci pour ta très grande collaboration dans ce travail. Merci pour ta disponibilité, tes explications données à plusieurs reprises…

Madame le Docteur SAMIMI, merci de me faire l'honneur de faire partie de mon jury et de juger mon travail. Merci pour ta disponibilité, ton investissement auprès des malades, ta gentillesse et ta bonne humeur. Travailler avec toi est un plaisir et je le sais depuis que… je suis externe !

Merci aux Docteurs Gabriela GEORGESCOU, Valérie TAUVERON et Emmanuelle LE BIDRE pour votre gentillesse.

Merci à mes chefs de clinique, Louise, Marine et Carole pour votre enseignement quotidien et vos conseils. Merci pour votre gentillesse, disponibilité et soutien.

Un grand merci aux infirmières, aides soignantes du 11ème étage, du 7ème et des consultations : merci pour ce que vous m'avez appris, merci pour votre investissement et votre humanité auprès des patients.

Merci aux secrétaires Guillemette, Valérie, Chrystèle et Charline : travailler avec vous est rassurant et se fait dans la bonne humeur.

Merci au Docteur ESTÈVE : Jerry a grandi mais n'oublie pas ses premiers pas en Dermatologie… merci de m'avoir aidée à les faire. A Guido, Aude, Adeline et Raphaëlle, merci de m'avoir enseigné les bases de la dermatologie qui m'ont permis d'avancer, merci aussi pour les soirées sympathiques passées ensemble (!).

Merci aux infirmières, aides soignantes et secrétaires de l'équipe de Dermatologie d'Orléans : je ne vous oublie pas.

Merci aux équipes de Pneumologie d'Orléans et d'Oncologie Médicale de Blois. Natacha : merci de m'avoir donné confiance en moi, Olivier : merci de m'avoir tant appris, de m'avoir soutenue.

Merci à Charlotte, Sophie, Clémentine, Clémence, Audrey, Valérie, Jimmy, Maude et Marie : vous êtes de supers co-internes, devenus des amis.

Merci à mon lapin : merci d'être là Thibault. Merci d'avoir toujours été présent, merci pour ton écoute, ton soutien, ta patience, ton humour.

Merci à ma famille qui m'a soutenue durant ces années,
Ma petite Laura, merci d'être toujours là, malgré « tout ».
Mes parents chéris : merci d'avoir toujours été là. Ma réussite, je vous la dois. Merci pour votre soutien, votre bonne humeur et votre humour.
Ma sœur Béatrice et mon frère Xavier : malgré la distance, vous faites partie des « piliers ». Merci d'être là, avec vos moitiés et vos enfants, merci pour votre soutien et vos sourires.

Merci à BBC : merci d'être entré dans ma vie, d'y avoir apporté de l'oxygène, du bonheur, de la confiance et de la joie.

Un ratio neutrophiles / lymphocytes élevé est associé à une survie plus courte chez les patients ayant un mélanome métastatique traités par ipilimumab

Table des matières

	Pages
Résumé ……	11 à 12
Abstract ……	13 à 14
Introduction …….	15 à 17
Patients et méthodes ……	18 à 21
Résultats …….	22 à 24
Discussion ……..	25 à 30
Références .……..	31 à 33
Annexe 1 (Figures et Tableaux) …….	34 à 38
Annexe 2 (article soumis à la publication, en anglais) …….	39 à 45

Un ratio neutrophiles / lymphocytes élevé est associé à une survie plus courte chez les patients ayant un mélanome métastatique traités par ipilimumab

RESUME

Introduction. Le faible nombre de répondeurs à l'ipilimumab dans le traitement du mélanome métastatique et son coût très élevé incitent à trouver des marqueurs prédictifs de réponse au traitement. Il a été montré que l'augmentation du nombre de lymphocytes ou qu'un ratio neutrophiles / lymphocytes (RNL) bas avant la troisième perfusion était associé à une meilleure survie. Notre objectif était de déterminer si le ratio neutrophiles / lymphocytes mesuré quelques jours avant la première perfusion était associé à un allongement de la survie globale.

Patients et Méthodes. Il s'agissait d'une série rétrospective menée dans 4 services hospitaliers, incluant tous les patients ayant un mélanome métastatique et traités par ipilimumab. L'impact du RNL et d'autres facteurs tels que la Lactate Deshydrogenase, le Performance Status et la prise de corticoïdes sur la survie globale, ont été analysés. Une analyse univariée puis multivariée a été réalisée en utilisant un modèle de Cox.

Résultats. Il a été montré une association significative entre un RNL élevé et une survie plus courte ; ceci restait statistiquement significatif en analyse multivariée, après ajustement avec de potentiels facteurs confondants (HR = 1.10, IC 95 % : 1.01-1.19 ; p = 0.026). Un Performance Status supérieur à 1 était aussi un facteur pronostique indépendant.

Conclusion. Le RNL élevé avant l'initiation d'un traitement par ipilimumab est un facteur de mauvais pronostic indépendant. Ceci doit être confirmé par des études prospectives et le ratio neutrophiles / lymphocytes pourrait être un marqueur biologique et peu coûteux d'agressivité de la maladie, aidant à la prescription de l'ipilimumab.

Mots clés :

- Ratio neutrophiles/ lymphocytes,
- Anti CTLA-4,
- Facteur pronostique,
- Performance Status,
- Survie globale.

Neutrophil / lymphocyte ratio measured before starting treatment is associated with reduced overall survival in patients with melanoma treated with ipilimumab.

ABSTRACT

Background. There is an unmet need to identify markers predictive of response to ipilimumab in patients with melanoma because the number of responders to ipilimumab is low and its cost is very high. Absolute increase in lymphocytes or low neutrophil / lymphocyte ratio just before the third infusion has been associated with better overall survival. Our objective was to determine whether neutrophil / lymphocyte ratio measured before the first infusion was associated with overall survival.

Patients and Methods. Data were collected on a consecutive series in 4 hospitals including all patients with metastatic melanoma treated with ipilimumab. The influence on survival of the neutrophil / lymphocyte ratio and other factors such as Lactate Deshydrogenase, Performance Status and corticosteroids was studied. Univariable and multivariable analyses were performed using Cox regression models.

Results. A significant association between high neutrophil / lymphocyte ratio and poorer survival was demonstrated and remained significant after adjustment on potential confounders (HR = 1.10, 95%CI : 1.01 to 1.19, p = 0.026). A Performance Status higher than 1 was also an independent prognostic factor.

Conclusion. Neutrophil / lymphocyte ratio before initiating ipilimumab treatment is an independent poor prognostic factor of survival. This has to be confirmed in prospective studies and may constitute a valuable cost-effective biomarker of aggressive disease.

Key words:

- Neutrophil / lymphocyte ratio,
- Anti-CTLA4,
- Prognostic factor,
- Performance Status,
- Overall survival.

INTRODUCTION

L'incidence du mélanome, avec 160 000 nouveaux cas par an en 2013 [1], est rapidement croissante en France et dans le reste du monde. La survie à 5 ans des patients ayant un mélanome métastatique (stade IV) est inférieure à 10 % lorsqu'ils sont traités par mono chimiothérapie conventionnelle telle que la dacarbazine. Le taux de survie à 1 an est de 25 %, celui à 3 ans de 15 % [1]. La médiane de survie est comprise entre 6 et 10 mois selon les séries [1-5] et celle-ci est encore plus mauvaise dans les formes rapidement progressives [6]. Toutefois, les nouvelles thérapies (immunothérapie et thérapies ciblées) ont permis une amélioration significative de la survie globale ces dernières années [1].

L'ipilimumab est un anticorps monoclonal humain, anti-CTLA4 situé à la surface des lymphocytes T cytotoxiques. L'activation du CTLA4 déclenche des signaux inhibiteurs, modérant la réponse immunitaire anti-tumorale des lymphocytes T. Son blocage par l'ipilimumab empêche l'inactivation des lymphocytes T cytotoxiques et favorise leur activité anti-tumorale, mais aussi l'apparition d'effets secondaires auto-immuns.

L'ipilimumab (administré en 4 perfusions, 3 mg/kg, toutes les 3 semaines pendant 12 semaines) est le premier traitement ayant permis un allongement de la survie globale chez des patients sélectionnés, ayant un mélanome stade IV dans des essais cliniques randomisés [7-9]. Une réponse clinique ou une stabilisation de la maladie était obtenue chez 20 % des patients. La médiane de survie était allongée de 7 à 10 mois. Des essais avec une dose plus élevée (10 mg/kg) n'ont pas montré une augmentation statistiquement significative de l'efficacité mais une toxicité accrue [8]. Des études sont en cours évaluant l'intérêt d'un traitement d'entretien tous les 3 mois, après un traitement d'attaque [8-10]. Quelques séries ont montré la possibilité de reprendre le traitement chez des répondeurs initiaux lors de rechutes [10-12].

Le faible nombre de répondeurs à l'ipilimumab, son coût élevé (80 000 euros par patient pour 4 perfusions), les potentiels effets indésirables sévères incitent à trouver des facteurs prédictifs de réponse au traitement.

Or, aucun marqueur prédictif avant d'instaurer le traitement n'a pu être encore identifié et ce, bien que l'ipilimumab soit désormais recommandé pour les patients en évolution lentement progressive, compte tenu de l'action retardée de l'anticorps [6-13].

L'inflammation et la répression de la réponse immunitaire par la tumeur sont des mécanismes importants contribuant à la progression tumorale.

Un rapport neutrophiles / lymphocytes (RNL) élevé dans le sang lors du diagnostic initial, ou lors d'une progression métastatique, est associé à une survie plus courte dans de nombreuses tumeurs solides. Ceci a été récemment rapporté dans une méta-analyse portant sur 100 études, comprenant 40 559 patients [14] avec une valeur seuil pour le RNL à 4. Un RNL supérieur à 4 était associé à une diminution de la survie globale avec un Hazard Ratio à 1.81 (IC95 % : 1.67-1.97 ; $p < 0.001$). L'impact de ce ratio n'a jamais été étudié dans les mélanomes de stade I à III.

Un article récent portant sur des patients ayant un mélanome stade IV et traités par ipilimumab à la dose de 10 mg/kg, a mentionné qu'un RNL supérieur à 2.8 avant la 3ème perfusion (soit à la semaine 7 de traitement) était associé à une survie plus courte (HR = 3,86 ; IC95 % : 1,43-10,41 ; $p < 0.0004$) [15]. Quatre autres articles ont rapporté que l'augmentation du nombre de lymphocytes et de polynucléaires éosinophiles à la 7ème semaine de traitement était associée à une survie prolongée [12, 16-18]. Toutefois, ces résultats ne sont objectivés uniquement qu'après le début de l'ipilimumab et n'aident pas dans la prise de décision pour instaurer ou non le traitement.

Tout récemment, après la fin de notre étude, une publication portant sur une série de 86 patients traités par ipilimumab et fotémustine, a montré, en analyse univariée, qu'un RNL

inférieur à la médiane (3.02) avant la première perfusion d'ipilimumab était associé à une survie plus longue [19]. Néanmoins, un ajustement avec de potentiels facteurs de confusion (notamment la corticothérapie) n'a pas été réalisé.

Notre objectif principal était de déterminer si le RNL mesuré quelques jours avant la première perfusion d'ipilimumab était associé à la survie globale chez les patients ayant un mélanome stade IV traités par ipilimumab et s'il pouvait, en conséquence, être un marqueur biologique, aidant à sa prescription.

Notre objectif secondaire était d'étudier l'indépendance du RNL par rapport à d'autres facteurs confondants connus tels que le Performance Status et la corticothérapie générale, puisque le nombre de polynucléaires neutrophiles augmente et celui des lymphocytes diminue, chez les patients traités par corticoïdes.

PATIENTS ET METHODES

Patients

Il s'agit d'une série rétrospective consécutive, menée dans 4 hôpitaux : Tours, Le Mans, Orléans et Châteauroux.

Les critères d'inclusion étaient les suivants : patient ayant un mélanome stade III non opérable ou IV, avec confirmation histologique de la récidive et ayant reçu au moins une perfusion d'ipilimumab entre le 16 avril 2008 et le 06 février 2014 (avant et après l'autorisation de mise sur le marché de l'ipilimumab par l'Agence européenne des médicaments en juillet 2011) [20].

L'ensemble des données a été collecté à partir des bases de données informatiques des 4 pharmacies hospitalières afin d'identifier tous les patients ayant reçu de l'ipilimumab durant la période de l'étude, soit du 6 février au 30 juillet 2014, et de l'analyse rétrospective de tous les dossiers patients. Les analyses ont été effectuées en intention de traiter, en gardant dans l'analyse les patients qui n'ont pas reçu le traitement complet, c'est-à-dire les 4 perfusions à 3 semaines d'intervalle.

Les caractéristiques clinico-pathologiques et démographiques suivantes ont été recueillies :

- L'âge, le sexe et le Performance Status du patient. Selon la définition de l'OMS, celui-ci est défini par un score : 0 (patient capable d'une activité identique à celle précédant la maladie) ; 1 (activité physique diminuée, mais patient ambulatoire et capable de mener un travail) ; 2 (patient ambulatoire et capable de prendre soin de soi-même, mais incapable de travailler et alité pendant moins de 50 % du temps) ; 3 (capable seulement de quelques activités, alité ou en chaise plus de 50 % du temps) ; 4 (incapable de prendre soin de soi-même, alité ou en chaise en permanence).

- L'indice de Breslow, le caractère ulcéré ou non du mélanome, le site du primitif (cutané, muqueux ou choroïdien), ainsi que le stade tumoral selon la classification AJCC [5] étaient précisés : IV (M1a : métastases ganglionnaires, cutanées ou sous-cutanées ; M1b : métastases pulmonaires ; M1c : autre métastase à distance) ou III non résécable.
- Étaient également évalués, lors de l'initiation du traitement par ipilimumab : la valeur de la Lactate Deshydrogénase (LDH), la présence de métastases cérébrales, symptomatiques ou non, la prise de corticoïdes, le nombre de lignes de chimiothérapies antérieures, les modalités de traitement de l'ipilimumab (dose, durée) et les effets indésirables.

Les bilans biologiques étaient prélevés dans différents laboratoires avant la première perfusion, permettant de calculer le nombre absolu de polynucléaires neutrophiles et de lymphocytes et ce, avant chaque perfusion.

La date de fin de la période de suivi était le 30 juin 2014.

Schéma thérapeutique

Il y avait 2 schémas posologiques possibles : le premier respecte l'AMM : 3 mg/kg toutes les 3 semaines pendant 12 semaines soit 4 perfusions réalisées aux semaines 1 (S1), 4 (S4), 7 (S7) et 10 (S10). Le second est un essai thérapeutique randomisé multicentrique (Programme Hospitalier de Recherche Clinique national, promu par le Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille) qui comporte 4 perfusions de 10 mg/kg, toutes les 3 semaines pendant 12 semaines, suivies d'un traitement d'entretien trimestriel pendant 2 ans, ou jusqu'à ce que surviennent une progression et/ou des effets indésirables conduisant à l'interruption du traitement.

L'administration se faisait par voie intraveineuse, chaque perfusion durait 90 minutes. Un traitement concomitant par corticoïdes était possible.

Critère de jugement

Le critère d'évaluation principal de l'étude était d'évaluer si le ratio neutrophiles / lymphocytes (RNL) était associé à la survie globale, définie par la survenue d'un décès quelle que soit la cause, à partir de la date de la première perfusion d'ipilimumab.

La réponse était évaluée lors du premier scanner réalisé après la dernière perfusion d'ipilimumab, soit à 1 et 4 mois ou à 3 mois après la 4ème perfusion, selon les protocoles des centres.

Elle était définie en utilisant les critères RECIST (Response Criteria in Solid Tumors) ou les critères irRC (Immune relater Response Criteria) [21,22], ceci dépendant de la période d'instauration du traitement par ipilimumab.

Les critères irRC sont les suivants :

- irCR (Complete Remission - rémission complète) : disparition complète de toutes les lésions (mesurables ou pas) et sans nouvelles lésions, objectivée à deux reprises, chaque évaluation devant être réalisée à plus de quatre semaines d'intervalle l'une de l'autre.
- irPR (Partial Response - réponse partielle) : diminution d'au moins 50 % de la masse tumorale soit la somme des plus grands diamètres de chaque lésion cible, en prenant pour référence la somme initiale des plus grands diamètres (avant tout traitement), confirmée par un nouvel examen réalisé à quatre semaines du premier examen.
- irSD (Stable Disease - maladie stable) : ne respectant pas les critères pour irCR ou irPR, et en absence d'irPD.
- irPD (Progressive Disease - maladie en progression) : augmentation d'au moins 25 % de la somme des diamètres des lésions cibles par rapport à la plus petite somme des diamètres observée (Nadir), ou l'apparition d'une ou plusieurs nouvelles lésions, objectivée à deux reprises, chaque évaluation devant être réalisée à plus de quatre semaines d'intervalle l'une de l'autre.

La date de progression était définie comme la date de survenue d'un événement clinique en lien avec la progression du mélanome ou la date du scanner objectivant une progression après une période de rémission complète ou partielle ou après qu'une stabilisation ait été obtenue.

Analyse statistique

Les données continues ont été décrites à l'aide de moyennes avec leurs écarts-types ou de médianes avec les premiers et troisièmes quartiles lorsque la distribution n'était pas normale. Les données discontinues étaient exprimées en nombres et pourcentages.

Les courbes de survie ont été calculées par la méthode de Kaplan Meier. Les médianes de suivi et de survie globale ont été estimées à l'aide de cette méthode également. La recherche d'association entre le RNL et la survie globale a été faite à l'aide de courbes de survie et comparées par un test du Log Rank.

Dans le but d'une utilisation du ratio en pratique clinique, nous avons aussi évalué l'association entre la survie globale et le RNL, en le catégorisant en variable binaire. La valeur seuil pour le RNL a été déterminée par l'analyse de la courbe ROC (Receiver Operating Curve), réalisée à l'aide du logiciel « ROCt » [23].

La modélisation de Cox a été également utilisée afin d'étudier l'association entre la survie globale et de potentiels facteurs de confusion tels que le Performance Status, la prise de corticoïdes et la valeur de la LDH.

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel d'analyses statistiques version 9.3 ou R-logiciel version 2.15.0.

RESULTATS

Patients et schéma thérapeutique

Cinquante huit patients [33 hommes (56.9 %), 25 femmes (43.1 %)] ont été inclus (Tableau 1). Vingt-six étaient suivis au CHU de Tours, 25 au CH du Mans, 5 au CHR d'Orléans et 2 au CH de Châteauroux. L'âge médian était de 55 ans. Le Performance Status (PS) était de 0 ou 1 pour 43 patients (74.1 %) : 22 patients (37.9 %) avaient un PS à 0, 21 patients (36.2 %) avaient un PS à 1. 15 patients (25.9 %) avaient un PS supérieur ou égal à 2.

L'indice de Breslow médian du mélanome primitif était de 3.6 mm (Q1 = 2.2, Q3 = 6.1), 28 mélanomes étaient ulcérés. Il y avait 51 stades M1c (87.9 %), 4 stades M1b (6.8 %), 2 stades M1a (3.4 %) et 1 stade IIIc inopérable (1.7 %), selon la classification AJCC. Il y avait 52 mélanomes cutanés, 5 muqueux et 1 mélanome choroïdien. La valeur médiane de la LDH à la semaine 1 (S1), mesurée chez 51 patients, était de 400 UI/L (Q1 = 273, Q3 = 674). Elle était normale chez 18 patients (35.3 %), élevée chez 33 patients (64.7 %).

Quinze patients (25.9 %) prenaient des corticoïdes à l'initiation du traitement par ipilimumab. 15 patients (25.9 %) avaient des métastases cérébrales, 6 (10.3 %) étaient symptomatiques. L'ipilimumab était prescrit en $1^{ère}$ ligne pour 4 patients, en $2^{ème}$ ligne pour 37 patients, en $3^{ème}$ ligne pour 11 patients et en $4^{ème}$ ou $5^{ème}$ ligne pour 6 patients. Il y a eu 3 cas de réinduction. 54 patients ont reçu une dose de 3 mg/kg, 4 une dose de 10 mg/kg.

Vingt-quatre patients (41.4 %) avaient un ratio neutrophiles / lymphocytes (RNL) supérieur ou égal à (≥) 4 à la semaine 1 (S1), 17 patients (38.6 %) avaient un RNL ≥ 4 à la semaine 7 (S7).

Survie globale

La durée médiane du suivi était de 931 jours (Q1 = 251 ; Q3 = 997).

La médiane de survie globale, depuis la 1ère perfusion d'ipilimumab était de 153 jours (IC95 % Q1 = 87 ; Q3 = 329) (Figure 1).

Les courbes de survie montraient que la survie était meilleure pour les patients ayant un RNL inférieur à 4 à la semaine 1 (Figure 2). La survie globale était de 329 jours pour les patients qui avaient un RNL < 4 et de 63,5 jours pour les patients ayant un RNL ≥ 4.

14 patients n'ont pas pu recevoir la 3ème perfusion d'ipilimumab, et 8 la 4ème et dernière perfusion en raison d'un décès lié à une progression rapide du mélanome. Aucun décès n'était lié à l'ipilimumab.

Réponse

Aucune réponse complète, 12 réponses partielles (37.9 %), 3 stabilisations (5.2 %) et 43 progressions (74.1 %) ont été observées.

Le ratio neutrophiles / lymphocytes (RNL)

La courbe ROC a identifié une valeur seuil optimale pour le RNL à 4 avec une AUC (Area Under Curve) à 0.85 : le RNL a été catégorisé en 2 groupes : « élevé » lorsqu'il était supérieur ou égal à 4, « bas » lorsqu'il était inférieur à 4.

- *Analyse univariée (Tableau 2)*

Le RNL élevé, mesuré avant la 1ère perfusion d'ipilimumab (S1) et pris comme une variable continue était associé de manière significative à une survie globale plus courte (HR = 1.17 ; IC95 % : 1.09-1.26 ; p < 0.0001).

Avec une valeur seuil pour le RNL à 4, les patients ayant un RNL ≥ 4 à S1 avaient une survie plus courte par rapport aux patients ayant un RNL < 4 à S1 (HR = 2.79 ; IC 95 % : 1.49-5.23 ; p = 0.001).

De même, le PS égal ou supérieur à 2 et la LDH supérieure à 2 fois la normale étaient associés de manière significative à une survie diminuée et ce, d'autant plus que les valeurs du

PS et de la LDH étaient élevées (HR = 5.89 ; IC95 % : 2.59-13.40 ; p < 0.0001 pour PS ≥ 2, et HR = 4.86 ; IC95 % : 1.98-11.93 ; p < 0.001 pour LDH ≥ 2N, respectivement).

La prise de corticoïdes avant l'initiation d'un traitement par ipilimumab était associée de manière significative à un risque de décès accru (HR = 3.24 ; IC 95 % : 1.68-6.23 ; p < 0.001).

Par contre, la présence de métastases cérébrales n'était pas associée statistiquement à une diminution de la survie (p = 0.12).

- *Analyse multivariée (Tableaux 3 et 4)*

Après ajustement avec de potentiels facteurs confondants : le RNL, pris en variable continue et lorsqu'il est supérieur ou égal à 4 restait significativement associé à une survie plus courte (HR = 1.1 ; IC95 % : 1.01-1.19 ; p = 0.026 et HR = 2.2 ; IC95 % : 1.01-4.78 ; p = 0.047, respectivement).

Avec le RNL en valeur continue, seul le PS restait statistiquement associé à la survie globale (HR = 4.84 ; IC95 % : 1.48-15.85 ; p = 0.033). La valeur de la LDH et la corticothérapie générale n'étaient plus associées à la survie (p = 0.13 et p = 0.89 respectivement).

Par contre, en fixant une valeur seuil à 4 pour le RNL, la valeur de la LDH et le PS supérieur ou égal à 2 restaient associés de manière significative à une survie plus courte, et ce d'autant plus que la valeur de la LDH était haute (HR = 3.64 ; IC95 % : 1.32-10.07 ; p = 0.01 pour LDH ≥ 2N) et que le PS était élevé (HR = 4.51 ; IC95 % : 1,50-13,59 ; p = 0.07 pour un PS ≥ 2) : ils sont des facteurs pronostiques indépendants.

Néanmoins, la corticothérapie initiée avant le traitement par ipilimumab n'était pas un facteur indépendant : elle n'était plus associée à la survie (HR = 1.28 ; IC95 % : 0.54-3.06 ; p = 0.58).

DISCUSSION

Le ratio neutrophiles/ lymphocytes mesuré avant la première perfusion d'ipilimumab est associé à la survie globale.

C'est la première étude qui montre que le ratio Neutrophiles / Lymphocytes (RNL) mesuré avant de démarrer un traitement par ipilimumab, dans une série consécutive de patients atteints de mélanome stade IV, est associé à la survie globale en analyse univariée puis multivariée (HR = 1.10 ; IC95 % : 1.01-1.19 ; p = 0.026). En utilisant la méthode ROC, le cut-off optimal a été déterminé. Avec un cut-off supérieur à 4, la survie était moins bonne (HR = 2.2 ; IC95 % : 1.01-4.78 ; p = 0.047).

Quelques études ont montré un lien entre RNL et survie globale chez des patients traités par ipilimumab pour un mélanome métastatique. Dans la première étude de Di Giacomo et al., portant sur 27 patients, il était retrouvé un allongement de la survie chez les patients ayant un RNL inférieur à 2.8 lors de sa mesure avant la troisième perfusion (soit à la semaine 7 du traitement) [15].

Dans la deuxième série de 86 patients traités par ipilimumab et fotémustine, un RNL inférieur à la médiane avant la première perfusion d'ipilimumab était associé à une meilleure survie, en analyse univariée [19].

Dans cette étude portant sur des patients ayant un mélanome stade IV traités en monothérapie par ipilimumab, nous confirmons ces résultats, avant tout traitement, à la fois en analyse univariée mais aussi en analyse multivariée, en prenant en compte des potentiels facteurs confondants.

Le RNL avant tout traitement, peut servir de marqueur biologique d'agressivité de la maladie, simple et peu coûteux. Or, l'agressivité du mélanome au stade IV est un critère de non-prescription selon les recommandations françaises parues en 2013 [24].

Le calcul du RNL pourrait aider dans la décision de prescrire ou non l'ipilimumab. Il permettrait d'améliorer son rapport coût-efficacité [25] et de limiter une toxicité inutile chez des patients non répondeurs.

Forces et limites de l'étude

Malgré la taille limitée de la population et le caractère rétrospectif de l'étude, cette dernière a plusieurs points forts.

Tout d'abord, à l'exception des 4 patients inclus dans l'essai thérapeutique, il s'agit d'une série consécutive de patients traités dans la « vraie vie ». Tous les patients traités ont été inclus, même quand, dans certains cas, une seule perfusion a été réalisée. Cette série comporte des patients dont l'état général était altéré (Performance Status 2 et plus), qui n'avaient pas été inclus dans les essais ayant permis d'obtenir l'AMM.

Nous avons cherché et étudié les potentiels facteurs de confusion tels que les corticoïdes (et il s'agissait de la première étude à le faire), la valeur de la LDH et le Performance Status.

Nous avons choisi de ne pas analyser le stade tumoral selon la classification AJCC dans le modèle de Cox car 51 des 58 patients avaient un mélanome stade M1c.

Nous avons également utilisé une stratégie afin de déterminer une valeur seuil optimale pour le RNL, à partir de la courbe ROC temps-dépendante, avec une AUC à 0.85. Fait intéressant, la valeur seuil de 4 est la même que celle retrouvée dans la méta-analyse [14]. Toutefois, cette valeur seuil devra être validée dans des cohortes ultérieures indépendantes, de préférence de manière prospective et en incluant une comparaison avec d'autres critères en lien avec la cinétique de croissance tumorale.

RNL et facteurs de confusion

La prise de corticoïdes avant le calcul du RNL peut être un facteur majeur de confusion.

Ce paramètre n'était pas pris en compte dans la méta-analyse [14]. La prescription de corticoïdes était un critère d'exclusion dans une étude menée sur des patients atteints de glioblastome, dans laquelle un RNL > 4 était associé à une survie plus courte chez ces patients [26] ce qui tend à montrer que le RNL est associé à la survie indépendamment de la prise de corticoïdes. Nous n'avons trouvé qu'une seule étude consacrée au RNL dans les cancers qui prenait en compte la corticothérapie. Cette étude, réalisée chez des patients atteints d'un cancer du poumon, a démontré qu'un RNL > 5 était un facteur associé à la survie péjoratif et ce, indépendamment de l'administration de courte durée de corticoïdes, prévue dans le protocole de chimiothérapie [27]. Une autre série récente, incluant des patients atteints d'un cancer du poumon à petites cellules, suggérait que les corticoïdes pouvaient être un facteur confondant mais n'a pas étudié le lien éventuel par une analyse multivariée [28].

Concernant le mélanome, dans les études portant sur l'augmentation du RNL ou celle du nombre de lymphocytes à la semaine 7 ou 10 [15,16] ou à la semaine 1 [19] du traitement par ipilimumab, la prise de corticoïdes durant le traitement n'était pas mentionnée et n'a pas été prise en compte dans une analyse multivariée.

Dans notre étude, 15 des 58 patients prenaient des corticoïdes pour des métastases symptomatiques, principalement cérébrales, hépatiques ou péritonéales, avant d'initier le traitement par ipilimumab : la corticothérapie générale était associée à une survie plus courte en analyse univariée. Néanmoins, cela n'a pas été retrouvé en analyse multivariée, en prenant en compte le Performance Status et la valeur de la LDH : ce n'était pas un facteur de mauvais pronostic indépendant.

Un essai randomisé (ipilimumab plus budesonide versus ipilimumab plus placebo) dont le but principal était d'étudier les effets secondaires chez les patients traités par

ipilimumab n'avait d'ailleurs pas montré que les patients traités par corticoïdes avaient une survie réduite par rapport à ceux qui n'en prenaient pas [29].

Concernant le Performance Status (PS), notre étude confirme que c'est un facteur associé à la survie et montre que la prescription d'ipilimumab chez des patients présentant une altération de l'état général est inutile car sans efficacité.

Néanmoins, cette étude apporte des données chiffrées qui n'avaient pas été publiées sur l'efficacité réduite de l'ipilimumab chez les patients ayant une altération de l'état général (PS 1 ou 2 et plus). En outre, le RNL et le PS sont des facteurs associés à la survie mais indépendants.

Par rapport au Performance Status, le RNL a un intérêt : il s'agit d'une valeur chiffrée, objective, indépendante de l'observateur.

Le PS est une donnée clinique, pas toujours facile à apprécier. Une étude sur des patients ayant un cancer du poumon non à petites cellules portant sur l'exactitude de l'évaluation du PS a rapporté une différence significative de cotation selon l'évaluateur (médecin, infirmière, patient) avec un agrément inter-observateur moyen kappa = 0.55 [30].

Enfin, compte tenu de l'indépendance de ces facteurs associés à la survie, l'élaboration ultérieure d'un score pronostique composite associant le RNL, la valeur de la LDH et le PS, auxquels pourraient être attribués des coefficients qui restent à déterminer, serait intéressante.

Quelle est l'explication du lien entre RNL et survie dans le cancer ?

L'inflammation induite par le cancer et les réponses locales et systémiques de l'hôte ont déjà fait l'objet de nombreuses études. Les interactions entre la tumeur et le système immunitaire sont un élément déterminant de la croissance tumorale et donc de l'évolution de la maladie.

La neutrophilie reflète l'inflammation systémique. Une part de celle-ci est induite par la libération de cytokines et de chimiokines par la tumeur favorisant sa croissance, son angiogénèse, et inhibant la réponse immunitaire lymphocytaire. La lymphocytose sanguine est le reflet de l'efficacité de la réponse immune. Le RNL, rapport de la neutrophilie sur la lymphocytose correspond donc au rapport de l'inhibition de l'immunité par la tumeur sur la réponse immunitaire efficace. Un RNL élevé pourrait être le reflet d'une réponse immunitaire antitumorale insuffisante.

Le RNL est fortement associé à une mortalité accrue dans de nombreuses tumeurs solides [14] et dans les lymphomes [31,32].

Dans le mélanome, deux autres études portant sur des patients qui n'étaient pas traités par l'ipilimumab ont montré que le RNL, avant tout traitement, était associé à un risque accru de décès. La première étude incluant des patients ayant un mélanome stade IV, traités par immunothérapie (Interleukine-2), a rapporté qu'un chiffre élevé de polynucléaires neutrophiles dans le sang, avant tout traitement, était un facteur pronostique indépendant de mortalité [33]. La seconde étude menée sur 30 patients, opérés de métastases intra-abdominales de mélanome, montrait qu'un RNL supérieur à 5 était associé à une survie plus courte (HR = 7 ; IC 95 % : 2.1-23.6) [34]. Un RNL élevé après 3 perfusions était associé à une survie plus mauvaise dans les quelques études publiées.

Concernant le mélanome métastatique traité par ipilimumab, les études publiées ont montré qu'un RNL élevé après 3 perfusions était associé à une survie plus mauvaise [12,15-18].

Notre étude montre que le RNL élevé avant la première perfusion est déjà un facteur associé à une mortalité plus rapide, et ceci indépendamment des corticoïdes.

En résumé, le RNL, le Performance Status et la valeur de la LDH sont associés, mais de manière indépendante à la survie, chez les patients ayant un mélanome métastatique et traités par ipilimumab. Le RNL < 4, associé aux autres paramètres, est un biomarqueur associé à une survie plus longue, qui doit aider à rationaliser les indications de cette thérapeutique dans ce sous-groupe de patients.

REFERENCES

1. Eggermont AM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. Lancet 2014;383:816-827.

2. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe : estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer 2013;49:1374-1403.

3. Garbe C, Eigentler TK, Keilholz U, et al. Systematic review of medical treatment in melanoma: current status and future prospects. Oncologist 2011;16:5-24.

4. Ives NJ, Stowe RL, Lorigan P, Wheatley K. Chemotherapy compared with biochemotherapy for the treatment of metastatic melanoma : a meta-analysis of 18 trials involving 2,621 patients. J Clin Oncol 2007;25:5426-5434.

5. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. J Clin Oncol 2009;27:6199-6206.

6. Gaudy-Marqueste C, Archier E, et al. Initial metastatic kinetics is the best prognostic indicator in stage IV metastatic melanoma. Eur J Cancer 2014;50:1120-1124.

7. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. N Engl J Med 2011;364:2517-2526.

8. Wolchok JD, Neyns B, Linette G, et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma : a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. Lancet Oncol 2010;11:155-164.

9. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. N Engl J Med 2010;363:711-723.

10. Lebbé C, Weber JS, Maio M, et al. Survival follow-up and ipilimumab retreatment for patients with advanced melanoma who received ipilimumab in prior phase II studies. Ann Oncol 2014;25:2277-2284.

11. Wilgenhof S, Du Four S, Vandenbroucke F, et al. Single-center experience with ipilimumab in an expanded access program for patients with pretreated advanced melanoma. J Immunother 2013;36:215-222.

12. Robert C, Schadendorf D, Messina M et al. Efficacy and safety of retreatment with ipilimumab in patients with pretreated advanced melanoma who progressed after initially achieving disease control. Clin Cancer Res 2013;19:2232-2239.

13. Weber JS, Kähler KC, Hauschild A. Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. J Clin Oncol 2012;30:2691-2697.

14. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors : a systematic review and meta-analysis. J Natl Cancer Inst 2014;106[6]:dju124.

15. Di Giacomo AM, Calabrò L, Danielli R, et al. Long-term survival and immunological parameters in metastatic melanoma patients who responded to ipilimumab 10 mg/kg within an expanded access programme. Cancer Immunol Immunother 2013;62:1021-1028.

16. Simeone E, Gentilcore G, Giannarelli D, et al. Immunological and biological changes during ipilimumab treatment and their potential correlation with clinical response and survival in patients with advanced melanoma. Cancer Immunol Immunother 2014;63:675-683.

17. Ku GY, Yuan J, Page DB, et al. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting : lymphocyte count after 2 doses correlates with survival. Cancer 2010;116:1767-1775.

18. Delyon J, Mateus C, Lefeuvre D, et al. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma : an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. Ann Oncol 2013;24:1697-1703.

19. Di Giacomo AM, Ascierto PA, Queirolo P, et al. Three-year follow-up of advanced melanoma patients who received ipilimumab plus fotemustine in the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT)-M1 phase II study. Ann Oncol. 2014 Dec 23. pii: mdu577.

20. Hanaizi Z, van Zwieten-Boot B, Calvo G, et al. The European Medicines Agency review of ipilimumab [Yervoy] for the treatment of advanced [unresectable or metastatic] melanoma in adults who have received prior therapy : summary of the scientific assessment of the Committee for Medicinal Products for Human Use. Eur J Cancer 2012;48:237-242.

21. Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors : immune-related response criteria. Clin Cancer Res 2009;15:7412-7420.

22. Nishino M, Gargano M, Suda M, et al. Optimizing immune-related tumor response assessment : does reducing the number of lesions impact response assessment in melanoma patients treated with ipilimumab? J Immunother Cancer 2014;2:17

23. Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. Biometrics 2000;56:337-344.

24. Leccia MT, Planchamp F, Sassolas B, et al. Management of patients with metastatic cutaneous melanoma : French national guidelines. French National Cancer Institute. Ann Dermatol Venereol 2014;141:111-121.

25. Barzey V, Atkins MB, Garrison LP, et al. Ipilimumab in 2nd line treatment of patients with advanced melanoma : a cost-effectiveness analysis. J Med Econ 2013;16:202-212.

26. Bambury RM, Teo MY, Power DG, et al. The association of pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio with overall survival in patients with glioblastoma multiforme. J Neurooncol 2013;114:149-154.

27. Cedrés S, Torrejon D, Martínez A, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio [NLR] as an indicator of poor prognosis in stage IV non-small cell lung cancer. Clin Transl Oncol 2012;14:864-869.

28. Kang MH, Go SI, Song HN, et al. The prognostic impact of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with small-cell lung cancer. Br J Cancer 2014;111:452-460.

29. Weber J, Thompson JA, Hamid O, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma. Clin Cancer Res 2009;15:5591-5598.

30. Ando M, Ando Y, Hasegawa Y et al. Prognostic value of performance status assessed by patients themselves, nurses, and oncologists in advanced non-small cell lung cancer. Br J Cancer 2001;85(11):1634-9.

31. Porrata LF, Ristow K, Habermann T, et al. Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. Am J Hematol 2010;85:896-899.

32. Troppan K, Deutsch A, Gerger A, et al. The derived neutrophil to lymphocyte ratio is an independent prognostic factor in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br J Cancer 2014;110:369-374.

33. Schmidt S, Suciu S, Cornelis JA. Pretreatment levels of peripheral neutrophils and leukocytes as independent predictors of overall survival in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV Melanoma. J Clin Oncol 2007;25:1562-1569.

34. Cananzi FC, Dalgleish A, Mudan S. Surgical management of intraabdominal metastases from melanoma : role of the neutrophil to lymphocyte ratio as a potential prognostic factor. World J Surg 2014;38:1542-1550.

Annexe 1. FIGURES et GRAPHIQUES

Tableau 1. Caractéristiques des patients

		n (%)
Age médian (n = 58)		55.5 (15.6)
Hommes (n = 58)		33 (57)
Performance Status (n = 58)		
	0	22 (37.9)
	1	21 (36.2)
	2	12 (20.7)
	3	2 (3.5)
	4	1 (1.7)
Stade tumoral selon classification AJCC (n = 58)		
	III non résécable	1 (1.7)
	IV M1a	2 (3.4)
	IV M1b	4 (6.8)
	IV M1c	51 (87.9)
Taux de la Lactate Deshydrogenase (LDH) à S1 (n = 51)		
	Valeurs normales	18 (35.3)
	Entre 1 et 2 fois la valeur normale (N)	21 (41.2)
	>2 N	12 (23.5)
Métastases cérébrales (n = 58)		
	Absence	43 (74.2)
	Métastases cérébrales asymptomatiques	9 (15.5)
	Métastases cérébrales symptomatiques	6 (10.3)
Patients traités par corticoïdes (n = 58)		15 (25.9)
Nombre de lignes de traitements antérieurs (n = 58)		
	0	4 (6.9)
	1	37 (63.8)
	2	11 (19.0)
	>2	6 (10.3)
Ratio Neutrophiles / Lymphocytes (RNL) à la semaine 1 (n = 58)		
	Valeur continue	4.9 (4.0)
	RNL élevé soit ≥ 4	24 (41.4)
Ratio Neutrophiles / Lymphocytes (RNL) à la semaine 7 (n = 44)		
	Valeur continue	4.7 (5.2)
	RNL élevé soit ≥ 4	17 (38.6)

Figure 1. Courbes de survie selon méthode de Kaplan Meier

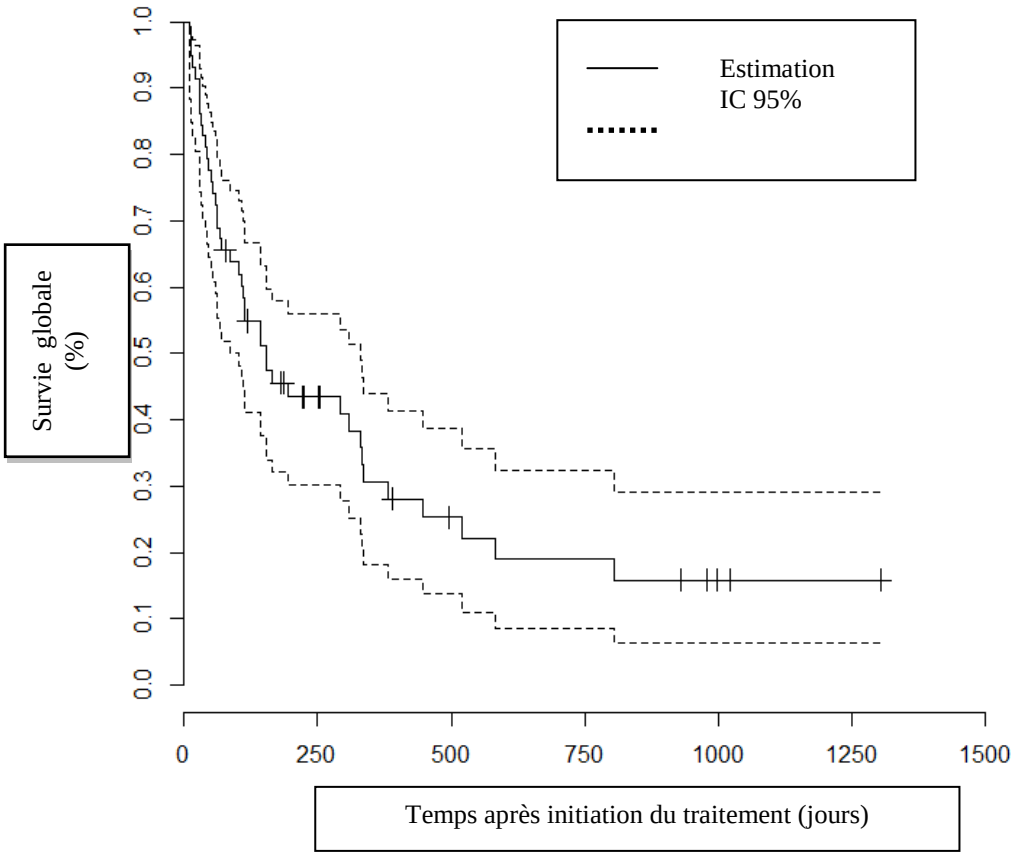

Figure 2. Courbes de survie de Kaplan Meier selon le RNL

Survie globale médiane pour les patients ayant un RNL < 4 : 329 jours
Survie globale médiane pour les patients ayant un RNL ≥ 4 : 63.5 jours

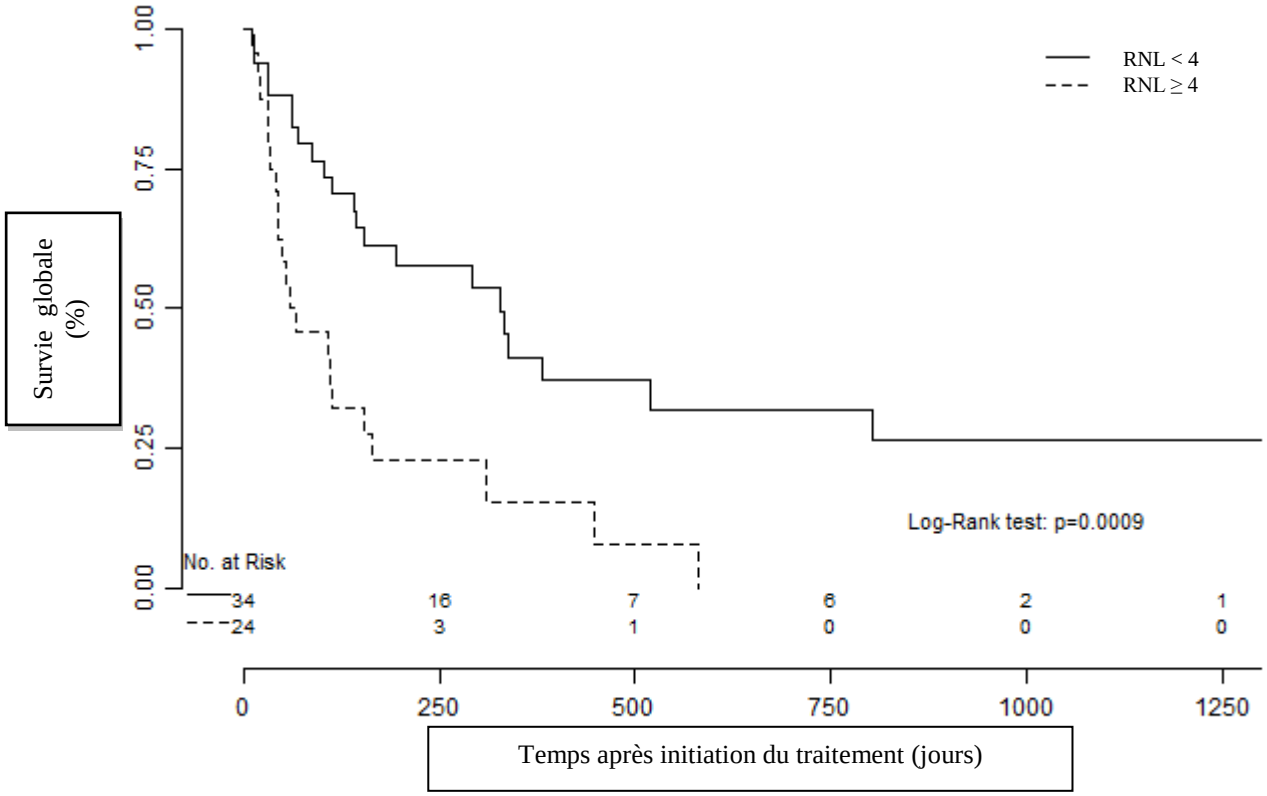

Tableau 2. Analyse univariée : associations entre la survie globale et les caractéristiques clinico-pathologiques chez 58 patients ayant un mélanome et traités par ipilimumab.

	Analyse univariée		
	Hazard Ratio	**IC 95 %**	**p**
Age	1.00	0.98 à 1.02	0.79
Ratio N/L S1 continu	1.17	1.09 à 1.26	**< 0.0001**
Ratio N/L S1 ≥ 4 (vs <4)	2.79	1.49 à 5.23	**0.001**
Ratio N/L S7 continu	1.22	1.11 à 1.33	**< 0.0001**
Neutrophiles ≥ $7.5.10^9$/L à S1	3.28	1.38 à 7.78	**0.007**
Performance status ≥ 2 (vs < 2)	3.20	1.68 à 6.11	**0.0004**
Performance status			**0.0001**
0 (ref)	1		
1	3.40	1.53 à 7.57	
≥ 2	5.89	2.59 à 13.40	
LDH UI/L			**0.002**
≤ULN (ref)	1		
1.1 to 2 X ULN	1.52	0.69 à 3.34	
> 2 X ULN	4.86	1.98 à 11.93	
Corticothérapie avant S1	3.24	1.68 à 6.23	**0.0004**
Métastases cérébrales			0.12
Non	1		
Asymptomatiques	0.93	0.39 à 2.25	
Symptomatiques	2.53	1.03 à 6.22	
Nb de lignes de chimio >2	1.46	0.78 à 2.73	0.23

Tableau 3. Analyse multivariée : association entre la survie globale et les caractéristiques clinico-pathologiques de 58 patients ayant un mélanome et traités par ipilimumab

	Analyse multivariée		
	Hazard Ratio	**IC 95 %**	**p**
Ratio N/L S1 continu	1.10	1.01 à 1.19	**0.026**
Performance status			**0.033**
0 (ref)	1		
1	1.85	0.74 à 4.64	
≥ 2	4.84	1.48 à 15.85	
LDH UI/L			0.13
≤ULN (ref)	1		
1.1 to 2 X ULN	1.42	0.61 à 3.32	
> 2 X ULN	2.85	0.99 à 8.11	
Corticothérapie avant S1	1.07	0.40 à 2.88	0.89

Tableau 4. Analyse multivariée : association entre la survie globale et les caractéristiques clinico-pathologiques de 58 patients ayant un mélanome et traités par ipilimumab

	Analyse multivariée		
	Hazard Ratio	**IC 95 %**	**p**
Ratio N/L S1 ≥ 4 (vs < 4)	2.20	1.01 à 4.78	**0.047**
Performance status			**0.019**
0 (ref)	1		
1	1.44	0.53 à 3.91	
≥ 2	4.51	1.50 à 13.59	
LDH UI/L			**0.037**
≤ULN (ref)	1		
1.1 to 2 X ULN	1.50	0.64 à 3.52	
> 2 X ULN	3.64	1.32 à 10.07	
Corticothérapie avant S1	1.28	0.54 à 3.06	0.58

Annexe 2. Article soumis à la publication(version anglaise)

Neutrophil / lymphocyte ratio measured before starting treatment is associated with reduced overall survival in patients with melanoma treated with ipilimumab.

J. ZARAGOZA [1], A. CAILLE [2,3], N. BENETON [4], G. BENS [5], F. CHRISTIANN [6], H. MAILLARD [4], L. MACHET [1,3,7].

[1] Department of Dermatology, CHRU, Tours ;

[2] INSERM CIC 1415 , CHRU, TOURS, France ;

[3] Universiy François Rabelais of Tours, PRES Centre- Val de Loire University, Tours ;

[4] Department of Dermatology, CH Le Mans ;

[5] Department of Dermatology, CHR Orléans,

[6] Medical Oncology, CH Chateauroux,

[7] Inserm U 930, University Francois Rabelais, Tours, France.

Corresponding author: L. Machet, Department of Dermatology, CHRU, 37044 Tours , France. Phone : +3347478773, Fax : +3347478247, Email : machet@univ-tours.fr

Key Message: The neutrophil -lymphocyte ratio before instigating ipilimumab treatment was studied as a prognostic factor in a consecutive series of 58 patients with unresectable stage III or stage IV melanoma. A higher neutrophil-to- lymphocyte ratio before the first ipilimumab infusion (week 1) was associated with worse overall survival on univariable and multivariable analyses. This could help in rationalizing the choice of systemic treatment in metastatic melanoma and be a cost-effective marker.

INTRODUCTION

The incidence of melanoma is increasing worldwide [1,2]. Patients with stage IV melanoma have poor 5-year overall survival (OS) when treated with conventional chemotherapy such as dacarbazine [1], and the median OS is between 6 and 10 months [1-5] and could be even worse in rapidly progressing disease [6]. However, new targeted therapies have demonstrated significant increase of OS in recent years [1].

Ipilimumab is a fully human monoclonal antibody against cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4). Ipilimumab (4 infusions every 3 weeks for 12 weeks), demonstrated improved OS in patients with stage IV melanoma [7-9]. Two doses were studied, (3 and 10 mg/kg), and no significantly greater superiority on OS was achieved with 10 mg/kg but toxicity increased [8]. Some studies included maintenance therapy every 3 months [8,10]. A few series demonstrated the possibility of restarting the treatment after an initial response and subsequent relapse [10-12]. In view of the small proportion of patients with objective response, the potential severity of adverse events and the cost of the drug, research was undertaken to find factors predictive of response to ipilimumab. However, no effective predictive factor has been yet identified, although ipilimumab is now recommended in fairly slowly progressive disease due to the delayed action of ipilimumab [6, 13].

Inflammation may play an important role in cancer progression. A high neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) at initial diagnosis or when metastases occur is associated with poorer survival in many solid tumors. This has been fully demonstrated in a recently published meta-analysis of 100 studies comprising 40,559 patients

[14] with a median NLR cutoff of 4. Overall, NLR greater than the cutoff was associated with a hazard ratio (HR) for OS of 1.81 (95% confidence interval(CI) = 1.67 to 1.97; P < .001). The influence of the NLR has not been studied in patients with melanoma stage 1 to 3. In 24 patients with stage 4 melanoma treated with ipilimumab, an NLR > 2.81 at week 7 (*i.e.* just before the 3rd infusion of ipilimumab) was reported to be associated with decreased OS (HR=3.86, 95% CI 1.43 to 10.41; P < .0004) [15]. Increased numbers of lymphocytes or eosinophil polymorphonuclear cells at week 7 were reported to be associated with better response in 4 other articles [12, 16-18]. Moreover, an NLR lower than the median (3.02) before the 1st infusion was recently reported to be associated with longer survival in a series of 84 patients treated with ipilimumab and fotemustine on univariate analysis [19]. However, adjustment on potential confounders was not performed.

Our main aim was to assess whether the NLR measured at week 1, *i.e*. before the 1st infusion of ipilimumab, was associated with OS, even after taking into account potential confounders, in melanoma patients treated with ipilimumab and therefore could be used as a cost-effective prognostic biomarker.

PATIENTS AND METHODS

Patients

This is a retrospective study of a consecutive series of all the patients from four hospitals in the center of France (CHU Tours, CH Le Mans, CHR Orléans and CH Châteauroux). Inclusion criteria comprised unresectable stage III or stage IV melanoma, histologically proven recurrence, receiving at least 1 infusion of ipilimumab performed between 16 april 2008 and 06 february 2014 (*i.e.* before and after the European Medicines Agency authorization of Ipilimumab in July 2011 [21]).

The exhaustivity of data collection was confirmed by interrogation of the computer database of the four hospital pharmacies to identify all ipilimumab dispensed during the study period.

All the patients' files were collected retrospectively between the 6th february and 30th July 2014. Clinical, pathological and demographic characteristics were collected including age, gender, performance status, Breslow thickness, melanoma ulceration, site of the primary melanoma (cutaneous, mucous or choroidal), metastatic stage according to AJCC classification [5], LDH level, presence of symptomatic or asymptomatic brain metastasis, treatment with systemic corticosteroids at ipilimumab initiation, number of previous lines of chemotherapy, modality of treatment with ipilimumab (dose, duration) and adverse events.

Routine blood tests were performed in different laboratories before the first infusion, allowing the calculation of the absolute lymphocyte and neutrophil counts, and before every subsequent infusion of ipilimumab.

The end of the follow-up period was 30 June 2014.

Treatment regimen

Ipilimumab was administrated intravenously at 3mg/kg every 3 weeks for 12 weeks, or 10 mg/kg every 3 weeks for 12 weeks followed by maintenance therapy every 3 months. Concomitant corticosteroids were allowed.

End point

The primary endpoint was OS defined as death from any cause and determined from the date of first infusion of ipilimumab.

The response was assessed on CT-scan performed at 1 and 4 months or at 3 months after the 4th infusion of ipilimumab, depending of the protocol of the center. It was determined using Response Evaluation Criteria in

Solid Tumors (RECIST) or immune related response criteria (irRC) [22,23] depending on the period of starting ipilimumab. The date of progression was defined as the date of occurrence of clinical events related to melanoma progression or the date of CT-scan showing progression after a period of complete or partial remission or a period of stable disease.

Statistics

Continuous data were described as means with standard deviation or median with first and third quartiles when the distribution was skewed. Categorical data were summarized as numbers and percentages. Median follow-up time was estimated by the reverse Kaplan-Meier method. Median overall survival time was estimated using the Kaplan-Meier method. Cox proportional hazard regression models were used to assess the univariate association between survival time and NLR as a continuous variable, calculated by dividing the number of neutrophils by the number of lymphocytes. To help later clinical use, we also assessed this association with NLR categorised as a binary variable. The cutoff value for the NLR was determined with time-dependent receiver operating curve (ROC) analysis (performed with the 'ROCt' package using R software) [23]. Cox models were also used to assess the univariate association between survival time and established prognostic factors or potential confounders such as performance status, corticosteroids and LDH. Simultaneous adjustment for all variables was then performed, one model with NLR as continuous and one with the NLR categorised as high or low. No variable selection procedure was used. Hazard ratios (HRs) and their corresponding 95% CIs were estimated. The proportional hazards assumption was checked by adding a time-by-NLR interaction term. All statistical analyses were performed using SAS software version 9.3 or R software version 2.15.0. A two-sided $P<0.05$ was considered to be statistically significant.

RESULTS

Patients and treatment regimen

Fifty-eight patients [n=33 (56%) men] were enrolled, including 51 M1c, 4 M1b stages (Table 1). The median Breslow thickness of the primary melanoma was 3.6 mm (Q1=2.2; Q3=6.1), 28 were ulcerated. The median LDH level at week 1 was 400 IU / L (Q1=273, Q3=674). Ipilimumab was used as 1st line treatment in 4 patients, 2nd line in 37, 3rd line in 11 and 4 or 5th line in 6. Fifty-four patients were treated with a dose of 3 mg/ kg and 4 patients received 10 mg/ kg.

Response

Fifteen patients (24.9 %) had partial response or stable disease, no complete response was observed.

Overall survival

Fourteen patients could not receive the 3rd course of ipilimumab and eight could not receive the 4th due to death due to rapid progression of melanoma. No death was related to ipilimumab.

The median overall follow-up time was 931 days (Q1=251; Q3=997). The median follow-up time of living patients (n=16) was 252.5 days (Q1=184; Q3=955, range, 77-1303 days). The median OS observed from the first cycle of ipilimumab was 153 days (95% CI 87 to 329).

NLR

The continuous variable of NLR before the 1st infusion was predive of OS on univariate and multivariate analysis (Table 2). When categorised into two groups with a cutoff value at 4, patients with a NLR ≥ 4 at week 1 had a worse OS compared with patients with a NLR<4 at week 1 (HR = 2.79; 95% CI 1.49 to 5.23 *P*=0.001). Glucocorticoid therapy started before ipilimumab initiation was associated with shorter survival (HR = 3.24; 95% CI 1.68 to 6.23 *P* <.001). A LDH level 2-fold above the normal level and performance status equal or higher than 2 were associated with reduced OS (HR = 4.86; 95% CI 1.98 to 11.93, *P*<.001 and HR = 5.89; 95% CI 2.59 to 13.40, *P*<.0001, respectively). On multivariable analysis, the NLR as a continuous variable and a NLR ≥ 4 was significantly associated with reduced OS (HR = 2.2 , 95% CI 1.01 to 4.78 , *P* = 0.047). Corticosteroid therapy started before ipilimumab was no longer associated with OS (HR = 1.28, 95% CI 0.54 to 3.06, P = 0.58). A LDH level 2-fold above the normal level and performance status equal or higher than 2 remained significantly associated with poorer OS (HR 3.64; 95% CI :1.32 to 10.07, P=.01 and HR = 4.51; 95% CI : 1.50 to 13.59, P =.07, respectively).

DISCUSSION

This was the first study to demonstrate that a high NLR is an independent marker of aggressive disease in a consecutive series of 58 patients with metastatic melanoma prior to initiation of ipilimumab, and is associated with decreased OS. In the first study of NLR in 27 patients with melanoma treated with ipilimumab, a better outcome was demonstrated in patients with a NLR below 2.8 measured before the 3rd infusion [15]. In the second series of 86 patients treated with ipilimumab and fotemustine, a NLR below the median before the first infusion was associated with longer survival on univariate analysis [19].We confirmed this finding using both univariable and multivariable analysis in patients treated with ipilimumab monotherapy. We believe that determining the NLR at baseline may serve as a simple and inexpensive biomarker of aggressive disease and may help in the decision not to prescribe ipilimumab as first line therapy, thus improving the cost-effectiveness of the drug [24] and limiting useless toxicity in predictible non-responders.

Despite the limited size of the population and the retrospective design, the study has some strengths. Apart from four patients included in a therapeutic trial it was a consecutive series of patients treated in "real life". All the patients treated were included, even if only one infusion had been performed. Moreover, we searched for potential confounding factors such as corticosteroids, LDH levels and performance status. We deliberately did not analyze the AJCC stage in the Cox model as 51 of the 58 patients were at stage M1c. We also used a strategy to determine independently the optimal cutoff value using the time dependant ROC curve method. Interestingly, the cutoff value of 4 was identical to the cutoff level found in the metanalysis [14]. However, the cutoff value should be validated externally in independent cohorts, preferably prospectively and a in comparison with the kinetics of tumor growth.

Inflammation induced by cancer, and local and systemic host responses have been the subject of many studies. A high NLR may reflect an inadequate host response, and has been reported to be associated strongly with worse outcome in many solid cancers [14] and in lymphomas [25,26]. Neutrophilia reflects systemic inflammation and is induced by tumor release of cytokines and chemokines that can favorize tumor growth and metastatic spread. In melanoma, two other studies showed that a pre-treatment NLR was associated with worse outcome in patients that were not treated with ipilimumab. The first was conducted in stage IV melanoma patients undergoing interleukin-2–based immunotherapy and demonstrated that a high pretreatment count of neutrophils in the blood was an independent factor prognostic of short OS [27]. The second was undertaken

with 30 patients operated on for intra-abdominal metastasis and showed that a NLR > 5 was associated with shorter OS (HR 7.0; 95% CI 2.1-23.6) [28].

Intake of corticosteroids before measuring NLR at baseline may be a confounding factor. This parameter was not taken into account in the metaanalysis [14]. Corticosteroid intake was an exclusion criterion in a study of patients with glioblastoma, and a NLR > 4 indicated pejorative outcome in these patients [29]. We found only one study devoted to NLR in cancers which took in account corticosteroid therapy. This study, carried out in patients with lung cancer, demonstrated that a NLR > 5 at baseline was a factor predictive of poorer survival, independently of a short course of corticosteroids included in the chemotherapy regimen [30]. Another recent series in small cell lung cancer patients recognized that corticosteroids may be confounding factor but did not address the question [31]. In the series reporting the interest an increase in the NLR or absolute lymphocyte count increase at week 7 or 10 [15,16] or week 1 of ipilimumab therapy [19], corticosteroid intake during treatment was not mentioned. In our study, corticosteroids were prescribed in 15 of 58 patients for symptomatic metastases located mainly to the brain, liver or peritoneum before starting ipilimumab, and this was associated with shorter OS on univariate analysis but was not found to be an independent factor of poorer outcome on multivariate analysis adjusted on performance status and LDH levels. This agrees with a trial of ipilimumab plus budesonide compared with ipilimumab plus placebo (aimed at demonstrating reduction of adverse events) that did not demonstrate significantly worse OS [32].

In summary, an NLR ≥ 4, performance status and LDH levels are all independent factors predictive of reduced OS in patients treated with ipilimumab for stage 4 melanoma and could be used to rationalize the indications for the drug in this subgroup of patients.

REFERENCES

1. Eggermont AM, Spatz A, Robert C. Cutaneous melanoma. Lancet 2014;383:816-827.

2. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. Eur J Cancer 2013;49:1374-1403.

3. Garbe C, Eigentler TK, Keilholz U, et al. Systematic review of medical treatment in melanoma : current status and future prospects. Oncologist 2011;16:5–24.

4. Ives NJ, Stowe RL, Lorigan P, Wheatley K. Chemotherapy compared with biochemotherapy for the treatment of metastatic melanoma : a meta-analysis of 18 trials involving 2,621 patients. J Clin Oncol 2007;25:5426-5434.

5. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. J Clin Oncol 2009;27:6199–6206.

6. Gaudy-Marqueste C, Archier E, et al. Initial metastatic kinetics is the best prognostic indicator in stage IV metastatic melanoma. Eur J Cancer 2014;50:1120-1124.

7. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. N Engl J Med 2011;364:2517-2526.

8. Wolchok JD, Neyns B, Linette G, et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. Lancet Oncol 2010 ;11:155-164.

9. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. N Engl J Med 2010;363:711-723.

10. Lebbé C, Weber JS, Maio M, et al. Survival follow-up and ipilimumab retreatment for patients with advanced melanoma who received ipilimumab in prior phase II studies. Ann Oncol 2014;25:2277-2284.

11. Wilgenhof S, Du Four S, Vandenbroucke F, et al. Single-center experience with ipilimumab in an expanded access program for patients with pretreated advanced melanoma. J Immunother 2013;36:215-222.

12. Robert C, Schadendorf D, Messina M et al. Efficacy and safety of retreatment with ipilimumab in patients with pretreated advanced melanoma who progressed after initially achieving disease control. Clin Cancer Res 2013;19:2232-2239.

13. Weber JS, Kähler KC, Hauschild A. Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. J Clin Oncol 2012;30:2691-2697.

14. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors : a systematic review and meta-analysis. J Natl Cancer Inst 2014;106[6]:dju124.

15. Di Giacomo AM, Calabrò L, Danielli R, et al. Long-term survival and immunological parameters in metastatic melanoma patients who responded to ipilimumab 10 mg/kg within an expanded access programme. Cancer Immunol Immunother 2013;62:1021-1028.

16. Simeone E, Gentilcore G, Giannarelli D, et al. Immunological and biological changes during ipilimumab treatment and their potential correlation with clinical response and survival in patients with advanced melanoma. Cancer Immunol Immunother 2014;63:675-683.

17. Ku GY, Yuan J, Page DB, et al. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting : lymphocyte count after 2 doses correlates with survival. Cancer 2010;116:1767-1775.

18. Delyon J, Mateus C, Lefeuvre D, et al. Experience in daily practice with ipilimumab for the treatment of patients with metastatic melanoma : an early increase in lymphocyte and eosinophil counts is associated with improved survival. Ann Oncol 2013;24:1697-1703.

19. Di Giacomo AM, Ascierto PA, Queirolo P, et al. Three-year follow-up of advanced melanoma patients who received ipilimumab plus fotemustine in the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT)-M1 phase II study. Ann Oncol. 2014 Dec 23. pii: mdu577.

20. Hanaizi Z, van Zwieten-Boot B, Calvo G, et al. The European Medicines Agency review of ipilimumab [Yervoy] for the treatment of advanced [unresectable or metastatic] melanoma in adults who have

received prior therapy : summary of the scientific assessment of the Committee for Medicinal Products for Human Use. Eur J Cancer 2012;48:237-242.

21. Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors : immune-related response criteria. Clin Cancer Res 2009;15:7412-7420.

22. Nishino M, Gargano M, Suda M, et al. Optimizing immune-related tumor response assessment : does reducing the number of lesions impact response assessment in melanoma patients treated with ipilimumab? J Immunother Cancer 2014;2:17

23. Heagerty PJ, Lumley T, Pepe MS. Time-dependent ROC curves for censored survival data and a diagnostic marker. Biometrics 2000;56:337-344.

24. Barzey V, Atkins MB, Garrison LP, et al. Ipilimumab in 2nd line treatment of patients with advanced melanoma : a cost-effectiveness analysis. J Med Econ 2013;16:202-212.

25. Porrata LF, Ristow K, Habermann T, et al. Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. Am J Hematol 2010;85:896-899.

26. Troppan K, Deutsch A, Gerger A, et al. The derived neutrophil to lymphocyte ratio is an independent prognostic factor in patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br J Cancer 2014;110:369-374.

27. Cananzi FC, Dalgleish A, Mudan S. Surgical management of intraabdominal metastases from melanoma : role of the neutrophil to lymphocyte ratio as a potential prognostic factor. World J Surg 2014;38:1542-1550.

28. Schmidt S, Suciu S, Cornelis JA. pretreatment levels of peripheral neutrophils and leukocytes as independent predictors of overall survival in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV Melanoma. J Clin Oncol 2007;25:1562-1569.

29. Bambury RM, Teo MY, Power DG, et al. The association of pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio with overall survival in patients with glioblastoma multiforme. J Neurooncol 2013;114:149-154

30. Cedrés S, Torrejon D, Martínez A, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio [NLR] as an indicator of poor prognosis in stage IV non-small cell lung cancer. Clin Transl Oncol 2012;14:864-869.

31. Kang MH, Go SI, Song HN, et al. The prognostic impact of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with small-cell lung cancer. Br J Cancer 2014;111:452-460.

32. Weber J, Thompson JA, Hamid O, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma. Clin Cancer Res 2009;15:5591-5598.

Vu Le Directeur de Thèse

Vu le Doyen
de la Faculté de Médecine de Tours

RESUME

Introduction. Le faible nombre de répondeurs à l'ipilimumab dans le traitement du mélanome métastatique et son coût très élevé incitent à trouver des marqueurs prédictifs de réponse au traitement. Il a été montré que l'augmentation du nombre de lymphocytes ou qu'un ratio neutrophiles / lymphocytes (RNL) bas avant la troisième perfusion était associé à une meilleure survie. Notre objectif était de déterminer si le ratio neutrophiles / lymphocytes mesuré quelques jours avant la première perfusion était associé à un allongement de la survie globale.

Patients et Méthodes. Il s'agissait d'une série rétrospective menée dans 4 services hospitaliers, incluant tous les patients ayant un mélanome métastatique et traités par ipilimumab. L'impact du RNL et d'autres facteurs tels que la Lactate Deshydrogenase, le Performance Status et la prise de corticoïdes sur la survie globale, ont été analysés. Une analyse univariée puis multivariée a été réalisée en utilisant un modèle de Cox.

Résultats. Il a été montré une association significative entre un RNL élevé et une survie plus courte ; ceci restait statistiquement significatif en analyse multivariée, après ajustement avec de potentiels facteurs confondants (HR=1.10, IC 95% : 1.01-1.19 ; p=0.026). Un Performance Status supérieur à 1 était aussi un facteur pronostique indépendant.

Conclusion. Le RNL élevé avant l'initiation d'un traitement par ipilimumab est un facteur de mauvais pronostic indépendant. Ceci doit être confirmé par des études prospectives et le ratio neutrophiles / lymphocytes pourrait être un marqueur biologique et peu coûteux d'agressivité de la maladie, aidant à la prescription de l'ipilimumab.

Académie d'Orléans – Tours

Université François-Rabelais

Faculté de Médecine de TOURS

ZARAGOZA Julia

49 pages ; 4 tableaux ; 2 figures.

RESUME

Introduction. Le faible nombre de répondeurs à l'ipilimumab dans le traitement du mélanome métastatique et son coût très élevé incitent à trouver des marqueurs prédictifs de réponse au traitement. Il a été montré que l'augmentation du nombre de lymphocytes ou qu'un ratio neutrophiles / lymphocytes (RNL) bas avant la troisième perfusion était associé à une meilleure survie. Notre objectif était de déterminer si le ratio neutrophiles / lymphocytes mesuré quelques jours avant la première perfusion était associé à un allongement de la survie globale.

Patients et Méthodes. Il s'agissait d'une série rétrospective menée dans 4 services hospitaliers, incluant tous les patients ayant un mélanome métastatique et traités par ipilimumab. L'impact du RNL et d'autres facteurs tels que la Lactate Deshydrogenase, le Performance Status et la prise de corticoïdes sur la survie globale, ont été analysés. Une analyse univariée puis multivariée a été réalisée en utilisant un modèle de Cox.

Résultats. Il a été montré une association significative entre un RNL élevé et une survie plus courte ; ceci restait statistiquement significatif en analyse multivariée, après ajustement avec de potentiels facteurs confondants (HR = 1.10, IC 95 % : 1.01-1.19 ; p = 0.026). Un Performance Status supérieur à 1 était aussi un facteur pronostique indépendant.

Conclusion. Le RNL élevé avant l'initiation d'un traitement par ipilimumab est un facteur de mauvais pronostic indépendant. Ceci doit être confirmé par des études prospectives et le ratio neutrophiles / lymphocytes pourrait être un marqueur biologique et peu coûteux d'agressivité de la maladie, aidant à la prescription de l'ipilimumab.

Mots clés : Ratio neutrophiles/ lymphocytes, Anti CTLA-4, Facteur pronostique, Performance Status, Survie globale.

Jury :

Président :	**Monsieur le Professeur Gilles CALAIS**
Membres :	**Monsieur le Professeur Laurent MACHET**
	Madame le Professeur Annabel MARUANI
	Madame le Docteur Mahtab SAMIMI
	Madame le Docteur Agnès CAILLE

Date de la soutenance : 20 avril 2015