

Les biothérapies anti-lymphocyte B : une histoire d'anticorps

Jean-Luc Teillaud

Centre de Recherche des Cordeliers (CRC)
INSERM UMRS 872, Université Paris Descartes
et Université Pierre et Marie Curie (UPMC)
Paris



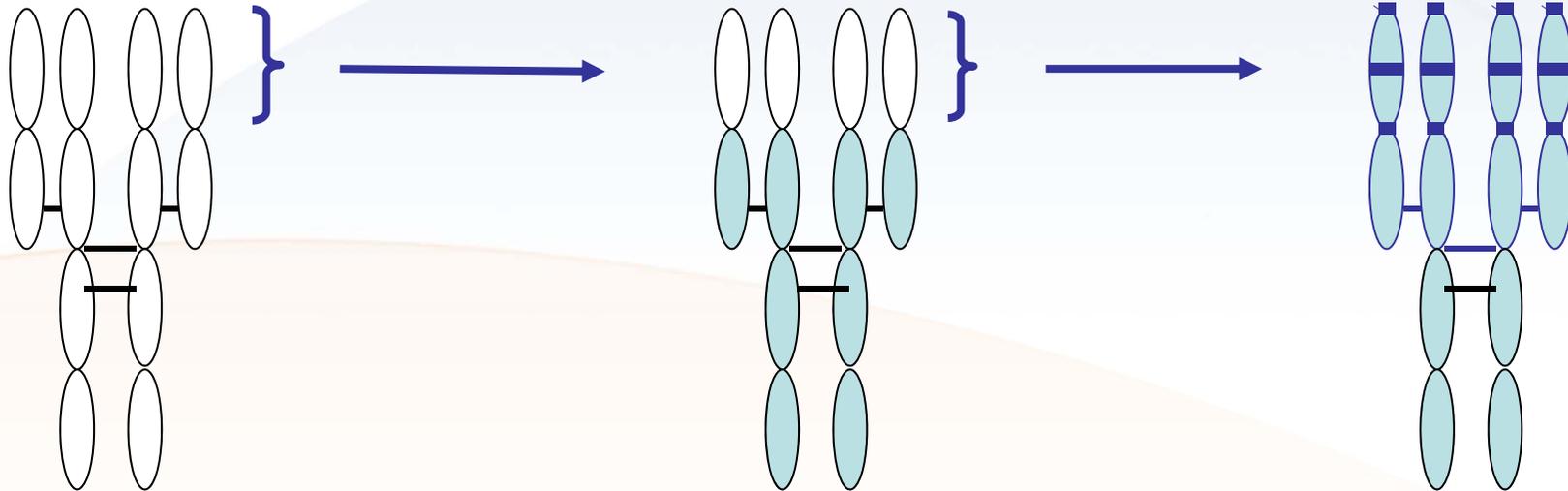
Les anticorps monoclonaux : 36 ans d'Histoire

- Publication de la technique d'obtention des anticorps monoclonaux (AcM) :
Köhler & Milstein, Nature, 256:495, 1975
 - Premier AcM mis sur le marché **(1986)** :
Muromonab (anti-CD3, souris)
 - Dernier AcM mis sur le marché **(2011)** :
Ipilimumab [anti-CTLA-4 (CD152)]

«L'anticorps murin qui voulait être humain»

- L'infusion d'AcM de souris chez l'Homme conduit à l'apparition d'anticorps humains anti-Ac de souris (HAMA)
 - Neutralisation et clairance accélérée de l'AcM → chute de l'efficacité
 - Effets secondaires dus à la formation de complexes immuns et à leur dépôt
- Les AcM de souris ne stimulent pas les fonctions effectrices de l'immunité de façon optimale chez l'Homme :
 - Faible activation du complément
 - Mauvais recrutement des récepteurs pour la région Fc des Ig (RFc) et du RFcn (→ diminution de la $T_{1/2}$)

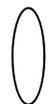
De la souris à l'Homme...



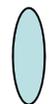
AcM de souris

AcM chimérique

AcM humanisé



Domaine Ig de souris

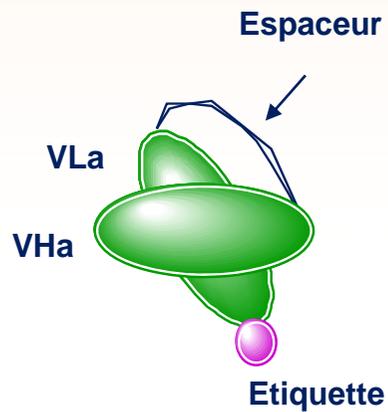
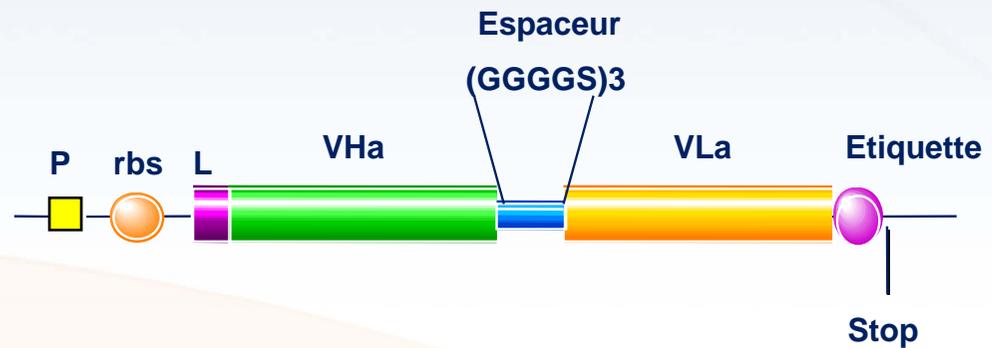
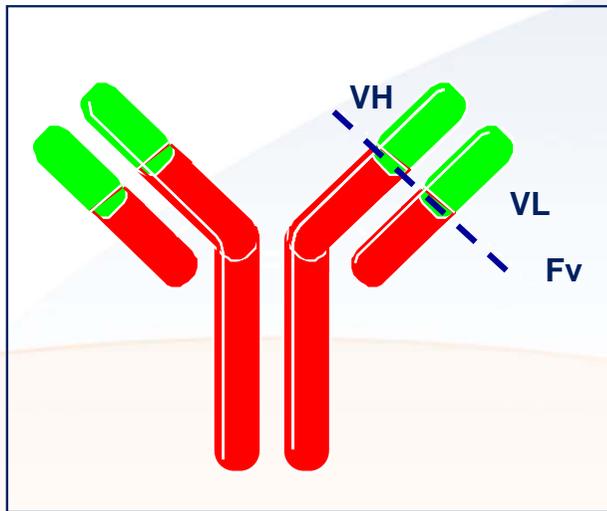


Domaine Ig Humain

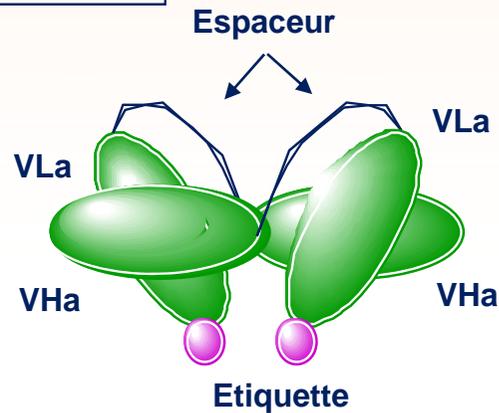


CDRs de souris

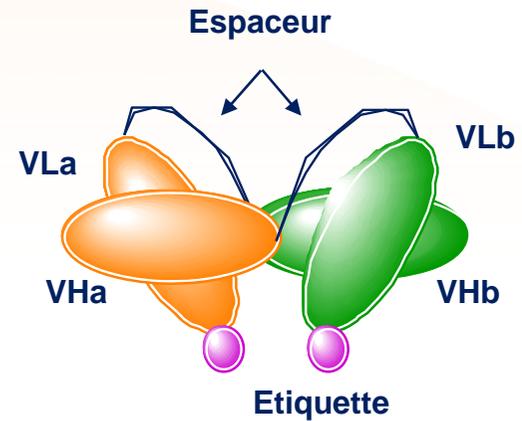
Dérivés d'anticorps : fragments et Ac bispécifiques



scFv

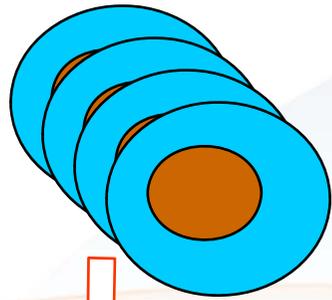


“Diabody” bivalent



“Diabody” bispécifique

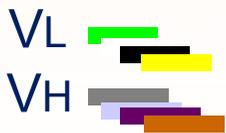
Banques combinatoires de phages



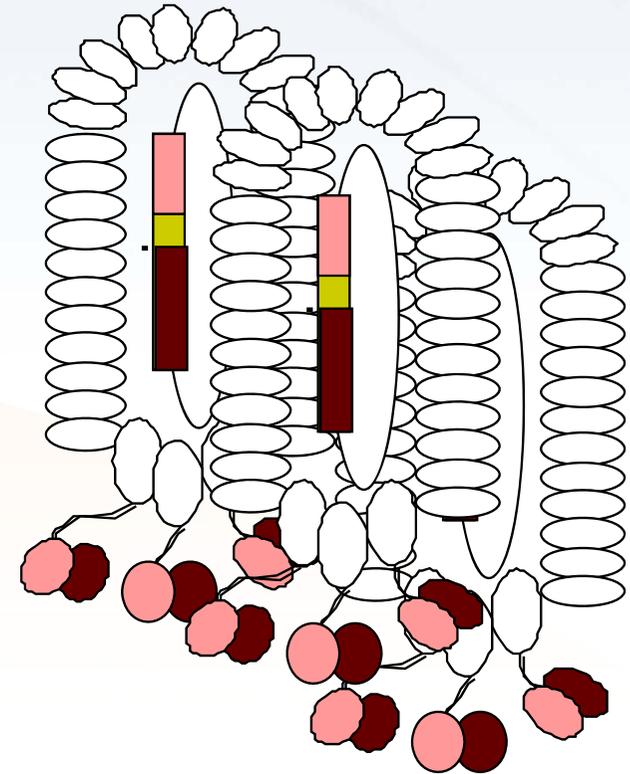
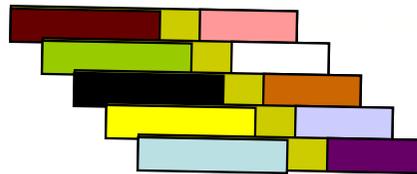
Lymphocytes B
humains



ARNt/ARNm



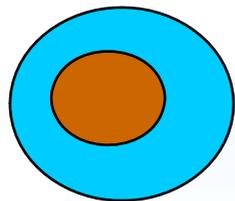
ADNc



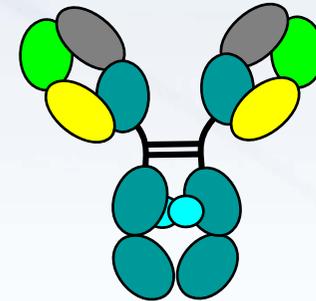
Génération d'AcM humains : utilisation de souris transgéniques humanisées contenant les gènes d'Ac humains



Génération d'un AcM recombinant chimérique huIgG1, κ



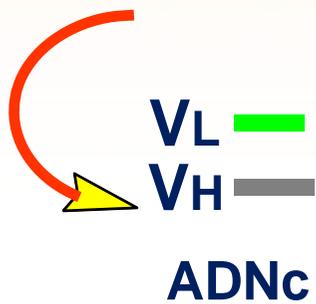
Hybridome B de souris



AcM, HuIgG1, κ

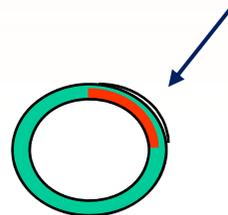


ARNt/ARNm

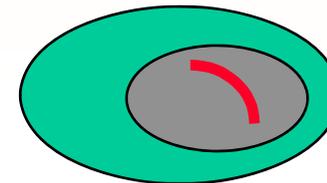


Vecteur avec séquences huC γ 1 et huC κ

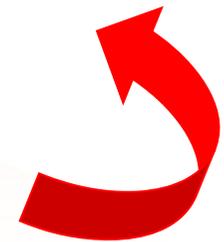
Clonage



Transfection



Lignée cellulaire
(CHO, NS1...)



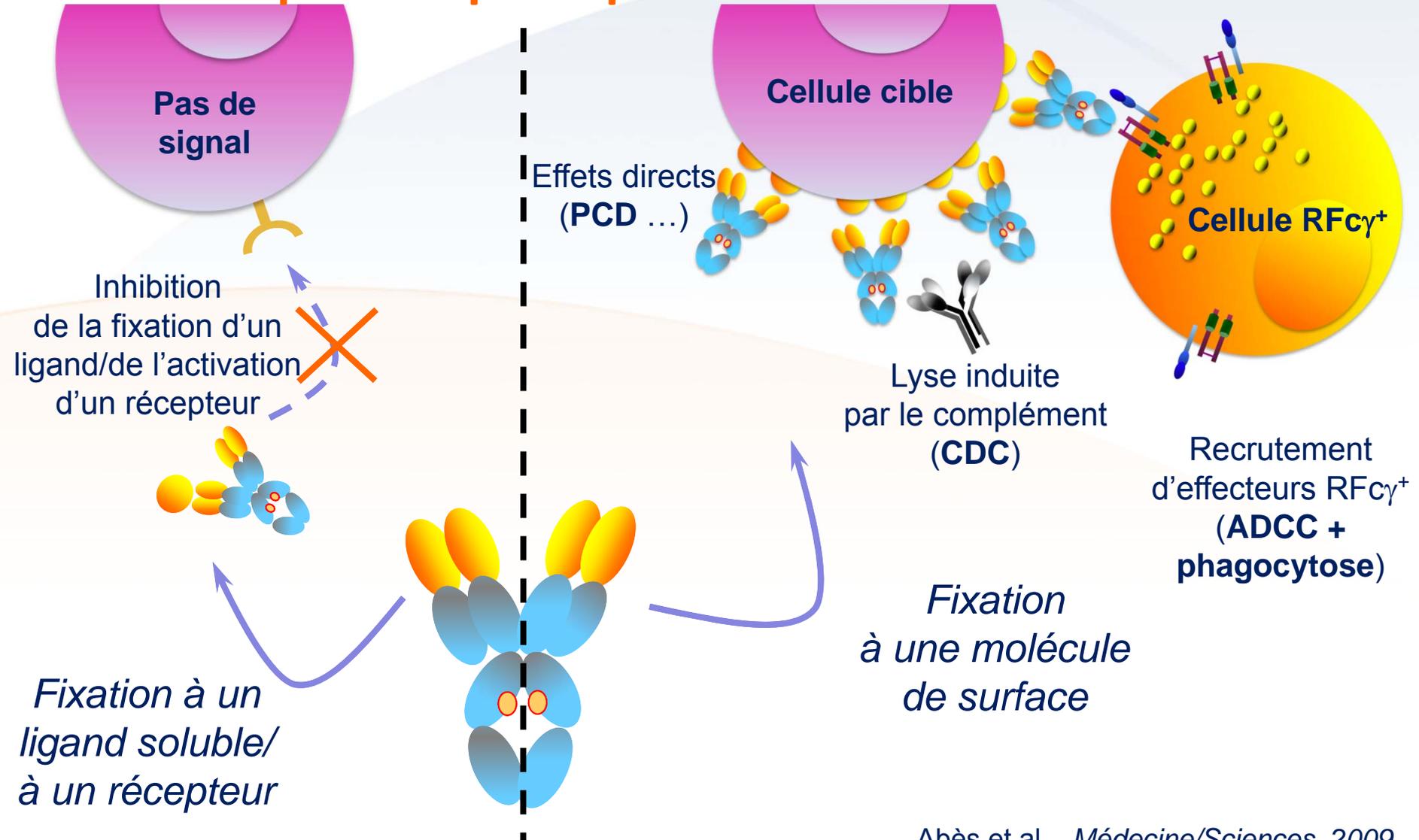
Immunogénicité des Ac recombinants

- Ac chimériques
 - Dépend de l'Ac chimérique : pas, peu ou fortement immunogène (Homologie plus ou moins forte avec les VH/V κ humains ?)

- 2. Ac humanisés
 - Peu immunogène mais dépend également de l'Ac considéré

- Pour tous les Ac recombinants
 - Rôle de la voie d'injection ?
 - Rôle des doses injectées et de leur nombre/fréquence ?
 - Rôle de l'antigène ciblé ?
 - Test de détection des HAMA utilisé !

Les anticorps thérapeutiques : mécanismes d'action



Modes d'action des AcM à usage thérapeutique

- **Neutralisation de l'interaction** ligand soluble-récepteur (Ac anti-ligand, anticorps anti-récepteur) : $TNF\alpha$, $IL1\beta$, VEGF, IL6-R, EGF-R, CD25 ($IL2-R\alpha$), $Fc\epsilon RI$, toxine (charbon), C5
- **Blocage de l'activation** d'un récepteur (HER2/Neu, EGF-R)
- Induction d'une **immunomodulation** par blocage de molécules membranaires impliquées dans la co-stimulation ou son contrôle (CD4, CTLA-4)

Modes d'action des AcM à usage thérapeutique

- **Blocage de l'interaction cellule-cellule** (CD11a, intégrine $\alpha 4$)
- **Induction d'apoptose** (CD20)
- **Activation de mécanismes effecteurs** via la région Fc (ADCC, CDC, phagocytose, production de cytokines ou/et de chimiokines) (CD20, CD52)
- **Ciblage d'une drogue** (CD33-ozogamicine) (retiré du marché)

Quelques règles de lecture à propos des AcM

Nom	Type	Ex. d'anticorps
xxmOmab	Mouse (Souris)	muromonab britumomab
xxXIImab	Chimeric (Chimérique)	rituximab cetuximab
XXZUmab	Humanized (Humanisé)	trastuzumab alemtuzumab
XxmUmab	Fully Human (Humain)	panitumumab adalimumab

Les AcM dans les maladies inflammatoires/auto-immunes

- Infliximab (**Remicade**[®]), IgG1, chimérique anti-TNF α , 1998
- Adalimumab (**Humira**[®]), IgG1, humain anti-TNF α , 2002
- Efaluzimab (**Raptiva**[®]), IgG1, humanisé anti-CD11a, 2003, suspendu 2009
- Certolizumab-pegol (**CIMZIA**[®]), Fab'-PEG, humanisé anti-TNF α , 2008
- Ustekinumab (**Stelara**[®]), IgG1, humain, anti-IL12/IL23 chaîne α , 2009
- Tocilizumab (**RoActemra**[®]), IgG1, humanisé anti-IL6-R, 2009
- Golimumab (**Simponi**[®]) IgG1, humain anti-TNF α , 2009
- Canakinumab (**Ilaris**[®]) IgG1, humain anti-IL1 β , 2009

Les AcM anti-lymphocyte B utilisés en clinique ou actuellement évalués dans des essais cliniques (1)

- AcM anti-idiotype
 - Administration **d'un AcM anti-idiotype** à un patient atteint d'un lymphome B (→ survie de plusieurs années) (1982)
- AcM anti-CD20
 - **Rituximab** (approuvé), IgG1 chimérique (LNH, LLC, PR)
 - **Ofatumumab** (approuvé), IgG1 humaine (souris Tg) (LLC)
 - **Ocrelizumab** (essais arrêtés), IgG1 humanisée (dérivé du rituximab) (PR, SEP)

Les AcM anti-lymphocyte B utilisés en clinique ou actuellement évalués dans des essais cliniques (2)

■ AcM anti-CD20

- **GA101** (essais), IgG1 humanisée (épitope CD20 type II → apoptose accrue) et optimisée (défucosylée → ADCC accrue) (LNH, LLC)
- **LFB-R603** (essais), IgG1 chimérique (épitope CD20 type I → faible apoptose) et optimisée (faible taux de fucose → ADCC accrue) (LLC)
- **Veltuzumab** (essais), IgG1 humanisée (LNH, PR, PTI)

Les AcM anti-lymphocyte B utilisés en clinique ou actuellement évalués dans des essais cliniques (3)

- AcM anti-CD52 (protéine membranaire sur LT et LB – ancre glypiée) :
 - **Alemtuzumab** (approuvé), IgG1 humanisée (LLC)
- AcM anti-BAFF (B-cell Activating Factor) (= BLyS = TALL-1 = CD257) :
 - **Belimumab** (approuvé), IgG1 humaine (phage) (LED); LY2127399 (essais), IgG4 (RA, LED, Myélome)
- AcM anti-IL6R :
 - **Tocilizumab** (atlizumab) (approuvé) IgG1 humanisée (PR, Castelman)
- Anticorps anti-CD22 (lectine SIGLEC, motif ITIM inhibiteur) :
 - **Epratuzumab** (essais), IgG1 humanisée (LNH, LED, Sjögren)
- AcM anti-CD23 (RFc ϵ II) :
 - **Lumiliximab** (essais), IgG1 chimérique (singe macaque) (LLC - retiré Mai 2010; asthme allergique ?)

Les AcM anti-lymphocyte B utilisés en clinique ou évalués dans des essais cliniques (4)

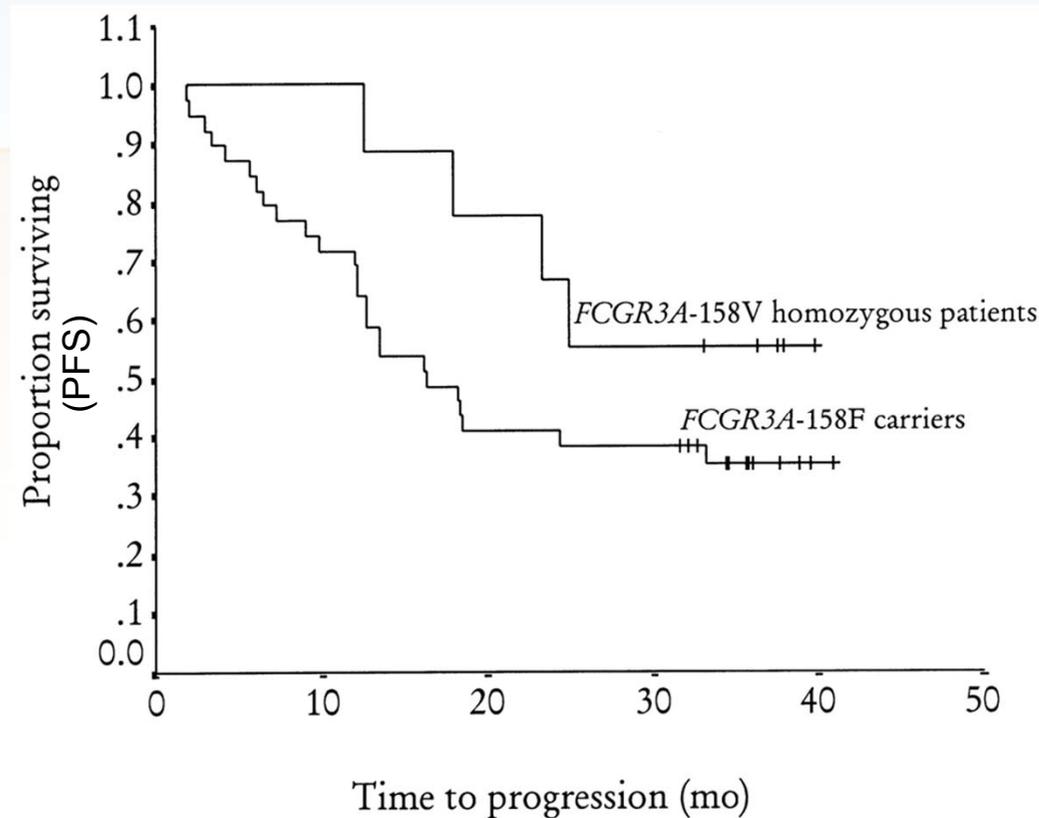
- AcM anti-CD40 et anti-CD40L (CD152) :
 - **Dacetuzumab** (CD40) toralizumab et ruplizumab (CD40L) (PR, PTI, LED) arrêté
- AcM anti-CD74 (chaîne invariante associée à la molécule HLA-DR) :
 - **Milatuzumab** (essais) IgG1 humanisée (Myélome, LNH, LLC)
- AcM anti-HLA-DR chaîne β :
 - **Apolizumab** (essais) IgG1 humanisée (LNH)
- AcM anti-IL-6 :
 - **Elsilimomab** (essais) IgG1 de souris ; CNTO328 IgG1 chimérique (Myélome)
- Ac bispécifiques : anti-CD3 (effecteur) x anti-CD19 (cible) :
 - **Blinatumomab** (essais) Bispecific T cell Engager (BiTE[®]) (LNH, LAL)
- **AcBs DART** (essais pré-cliniques) Dual-Affinity Re-Targeting (DART[™])

Mécanismes d'action des Ac anti-lymphocyte B

- ADCC (anti-CD19, anti-CD20, anti-CD22, anti-CD23, anti-CD52, anti-HLA-DR)
- CDC (anti-CD20, anti-CD52, anti-HLA-DR, anti-CD74)
- Apoptose (anti-CD20)
- Modulation négative du récepteur B de l'Ag (BcR) (anti-CD22)
- Inhibition de la prolifération :
 - Neutralisation d'un facteur de croissance des LB (anti-BAFF, anti-CD40L, anti-IL-6)
 - Neutralisation d'un récepteur de facteur de croissance/de différenciation (anti-IL-6R, anti-CD40)

Le polymorphisme du RFcγIIIA est associé à la réponse clinique des patients LNH traités avec l'AcM anti-CD20 rituximab

Polymorphisme du RFcγIIIA V/F158 :
Fixation des IgG1 humaines : V158 > F158

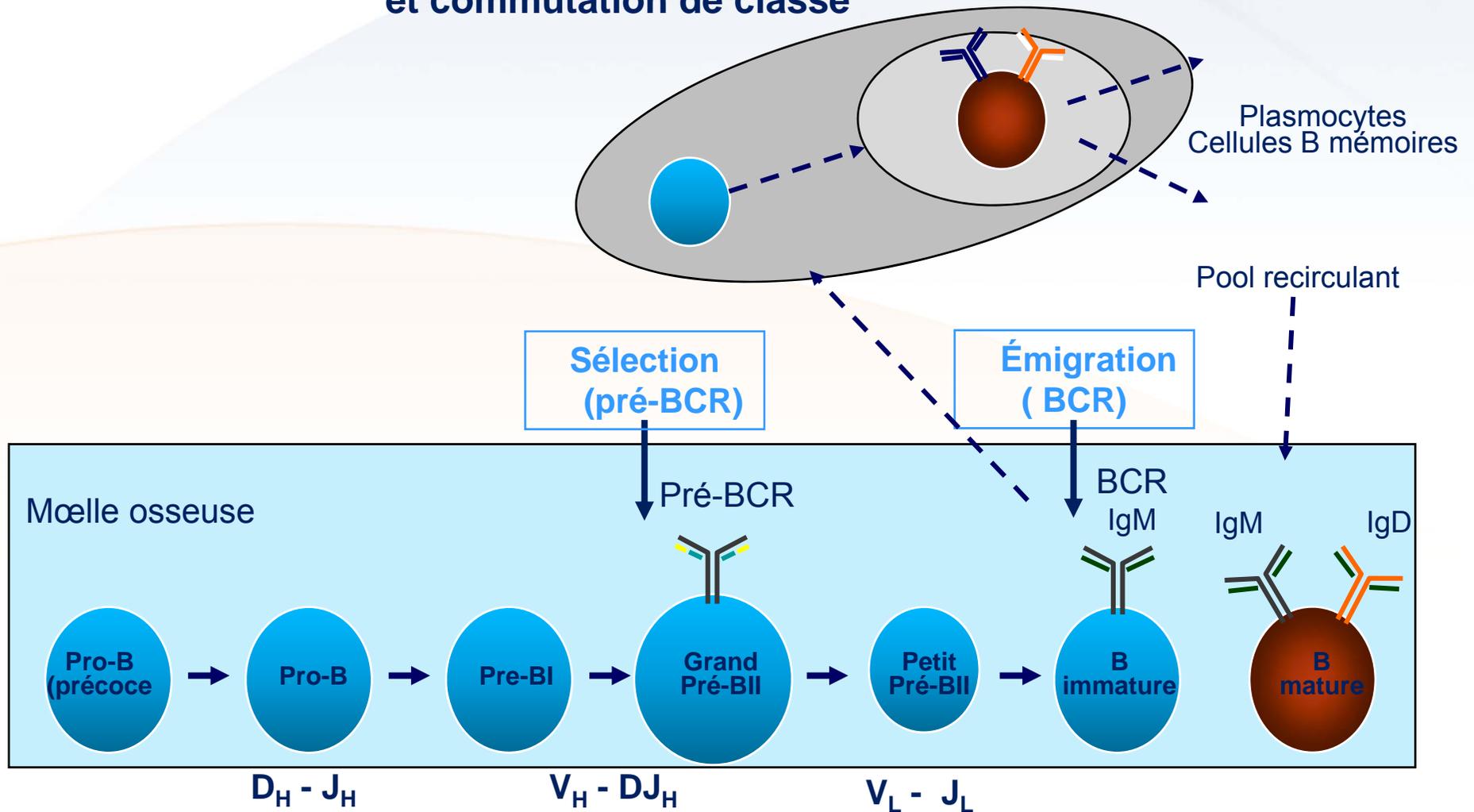


Choix des Ac anti-lymphocyte B

- Choix de la cible moléculaire et cellulaire
 - Quels lymphocytes B: cellule pro-B → plasmocytes ?
 - Bloquer la production d'anticorps ?
 - Bloquer la prolifération ?
 - Induction d'anergie ?
- Ciblage de marqueurs membranaires des LB (récepteurs /molécules activateurs ou inhibiteurs, BcR) ou de cellules impliquées dans l'activation des LB (LT, DCs) (AcM antagonistes de CD3, CD80, CD86, CD28...)
- Ciblages de facteurs de croissance, de ligands solubles
- **Choix de l'anticorps**
 - Isotype, région Fc (ADCC, CDC, T1/2),
 - formats (Ig, fragments, AcBs) et affinité

Développement des lymphocytes B

Mutations somatiques
et commutation de classe



Conclusion : optimisation des thérapeutiques fondées sur l'utilisation d'AcM

- Choix de la molécule cible: «neutre»/transductrice d'un signal après liaison à l'AcM (pro-apoptotique, cytostatique), internalisation/libération, niveau d'expression/hétérogénéité d'expression
- Ingénierie des AcM : isotype, immunogénicité, demi-vie/biodistribution, effets secondaires, production, coûts
- Critères d'inclusion des patients : stade, polymorphisme des molécules impliquées dans la réponse/non-réponse (ex : polymorphisme du RFc γ IIIa).
- Molécule injectée : formulation (Ac nu, RIT, molécule de fusion/conjuguée), quantités, voies d'injection, fréquence...
- Définition des paramètres de suivi biologiques (ex : anti-anticorps, cytokines, activation des cellules de l'immunité)