

# Etat des lieux du rôle de la thérapie cellulaire en oncologie.

Société de Médecine de Franche-Comté

10 mars 2011

Dr Marina Deschamps, PhD  
INSERM - UMR645 - EFS/BFC – IFR133



## Immunothérapie anti-cancéreuse

L'immunothérapie est une méthode thérapeutique qui consiste à moduler artificiellement le système immunitaire d'un organisme défaillant.

- **Immunothérapie passive:** Les anticorps monoclonaux
- **Immunothérapie active:** Les cytokines IFN $\alpha$ , IL-2 et TNF
- **Immunothérapie adoptive:** Les effecteurs immunitaires compétents, tels que les cellules dendritiques (DC), les cellules natural killer (NK) ou les lymphocytes T (LT)

Les LT: principaux acteurs du contrôle anti-tumoral.

- **LT « frais »:** Infusions de lymphocytes du donneur (DLI)
- **LT manipulés ex vivo:** (Mansoor et al, *British Journal of Cancer*, 2005)
  - LT spécifiques d'Ag tumoraux infiltrant les tumeurs (TIL)
  - LT obtenues par clonage moléculaire du TCR
  - LT exprimant un récepteur chimérique (CAR)

## Lymphokine-activated killer: LAK

1980: Rosenberg et al ont décrit une nouvelle méthode pour générer, des cellules lymphoïdes capables de lyser des cellules tumorales. (*J Immunol 1980, Cancer Res 1981, J Exp Med 1982*).

- Source: PBMC cultivés en IL2 (NK, CTL)
- Phénotype effecteur: CD56+ CD25+
- Lysent des cellules résistant aux NK via perforin, Fas et TNF
- Activité non restreinte au CMH mais peu spécifique

Entre 1987 et 1997 → 14 études cliniques peu concluantes mais qui à l'époque représentaient une grande avancé.

## LAK, études cliniques en cours

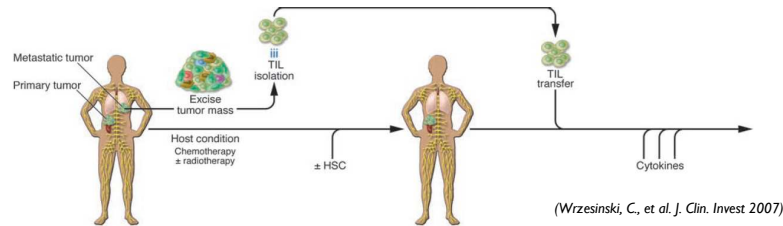
Ref: <http://clinicaltrials.gov/ct2/home>

Phase	Date	patients	title	Pathology	identifier	Investigator	Locations
Phase I	2009-2012	12	Lymphokine Activated Killer (LAK) Cell Activity Against Cell Lines In-vitro of LAK Generated in Vivo by Pulse Interleukin-2 Therapy	Melanoma, Kidney Cancer	NCT01068470	Quan W	Loma Linda University Cancer Center Beaumont, California, USA
Phase II	2008-2012	80	Lymphokine-Activated Killer Cells or Gliadel Wafer in Treating Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma Multiforme That Can Be Removed by Surgery	Brain, Central Nervous System Tumors	NCT00814593	Dillman RO	Memorial Hospital Presbyterian, Newport Beach, California, USA
Phase II	2009-2011	20	rIL-2 Activated Allogeneic Lymphocytes for the Induction of Graft Versus Tumor Effect (GVT) in Metastatic Solid Tumors	Metastatic Breast Cancer, Malignant Melanoma, Renal Cell Cancer, Gastrointestinal Cancer	NCT00855452	Or R	Hadassah University Hospital Recruiting Jerusalem, Israel

# Tumor-infiltrating lymphocytes:TIL

1969:Clarck WH et al ont décrit des Lymphocytes infiltrés dans un mélanome cutané, (Cancer Res 1969 )

- Les TILs sont isolés à partir de biopsie, puis expandu avec de fortes dose d'IL-2
- La disponibilité des biopsies est une limite à l'utilisation des TILs en clinique
- Principalement dans le mélanome.



- Les première études montrent la nécessité d'un conditionnement pré infusion pour voir un effet anti-tumoral significatif des TILs (Dudley, M.E., et al. Science 2002 & J. Clin. Oncol. 2005)
- Les modèles pré-cliniques montrent que la co-infusion de CSH autologues et de TILs favorise l'effet anti-tumoral (Wrzesinski, C., et al. J. Clin. Invest 2007)
- La présence de TILs corrèle avec le taux de survie dans les cancers colorectaux et cancer de l'ovaire. (Zhang, L., et al. N. Engl. J. Med 2003, Galon, J., et al. Science 2006)

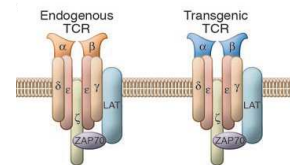
# TIL, études cliniques en cours

Ref: <http://clinicaltrials.gov/ct2/home>

Phase	Date	Patients	Title	Pathology	Identifier	Investigator	Locations
Phase III	2005-2011	70	TIL (Tumor Infiltrating Lymphocytes) and IL2 (Interleukin 2) Versus Abstemtion as Adjuvant Treatment in Melanoma With Only One Invaded Lymphnode After Lymphnodes Excision	Melanoma	NCT00200577	DRENO B	Nantes University Hospital, Nantes, France
Phase I/II	2010-2012	12	A Phase I/II Study of Immunotherapy With TIL (Tumor Infiltrating Lymphocytes) in Combination With Intra-tumoral Injections of Interferon Gamma-adenovirus (Ad-IFNG) in Patients With Stage II/III or Stage IV Metastatic Melanoma (AJCC)	Metastatic Melanoma	NCT01082887	DRENO B	CHU de Nantes Nantes, France
Phase II	2010-2015	130	A Phase II Study Using Short-Term Cultured, CD8+ Enriched Autologous Tumor-Infiltrating Lymphocytes Following a Lymphocyte Depleting Regimen in Metastatic Digestive Tract Cancers	Colorectal Cancer, Metastatic, Malignant Neoplasm of Stomach & Pancreas, Hepatocellular Carcinoma Metastatic, Metastatic Cholangiocarcinoma	NCT01174121		National Institutes of Health Clinical Center Bethesda, Maryland, USA
Phase I/II	2010-2013	101	Phase I/II Study of Metastatic Melanoma Using Lymphodepleting Conditioning Followed by Infusion of CD8 Enriched Tumor Infiltrating Lymphocytes Genetically Engineered	Skin Cancer, Metastatic Melanoma	NCT01236573		National Institutes of Health Clinical Center Bethesda, Maryland, USA
Phase I	2007-2010	36	Adoptive Cell Therapy for B-Cell Malignancies After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation With Costimulated, Tumor-Derived Lymphocytes	Leukemia, Lymphoma, Multiple Myeloma and Plasma Cell Neoplasm	NCT00456666		Warren Grant Magnuson Clinical Center - NCI Clinical Trials Bethesda, Maryland, USA
Phase II	2008-2010	27	Phase II Study With Immunotherapy With Dendritic Cells and Tumor Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors	Renal Cell Carcinoma, Melanoma, Carcinoma, Hepatocellular	NCT00610389	Melero I	Oncology Department, Clinica Universitaria de Navarra Pamplona, Navarra, Spain
Phase II	2009-2011	75	A Phase II Study Using Short-Term Cultured Anti-Tumor Autologous Lymphocytes Following a Non-Myeloablative Lymphocyte Depleting Chemotherapy Regimen in Metastatic	Melanoma (skin)	NCT00863330	Hanson JP Treisman JS	Aurora St. Luke's Medical Center Milwaukee, Wisconsin, USA
Phase II	2007-2012	169	A Phase II Study Using Short-Term Cultured Anti-Tumor Autologous Lymphocytes Following a Lymphocyte Depleting Regimen in Metastatic Melanoma	Melanoma	NCT00513604		National Institutes of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland, USA
Phase I	2009-2012	6	T-cell Based Immunotherapy for Treatment of Patients Squamous Cell Carcinoma in the Oral Cavity. A Pilot Study.	Squamous Cell Carcinoma, Head and Neck Cancer	NCT00937300	Svane IM	Department of Oncology, Copenhagen University Hospital, Herlev, Denmark
Phase II	2010-2013	135	Randomized Study of Cell Transfer Therapy Using CD8+ Enriched Short-Term Cultured Anti-Tumor Autologous Lymphocytes Following a Non-Myeloablative Lymphocyte Depleting Chemo Regimen Compared to High-Dose Aldesieukin in Metastatic Melanoma	Skin Cancer, Melanoma, Metastatic Melanoma	NCT01118091		National Institutes of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland, USA
Phase I/II	2009-2013	25	Lymphodepletion Plus Adoptive Cell Transfer With High Dose IL-2 in Patients With Metastatic Melanoma	Metastatic Melanoma	NCT01005745	Weber J	H. Lee Moffitt Cancer Center & Research Institute Tampa, Florida, USA

## TCR reprogrammation

- Le TCR naturel est composé des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  qui s'associent à un complexe protéique composé des chaînes CD3  $\epsilon$ ,  $\delta$  et  $\zeta$ , de LAT et Zap 70, pour transduire le signal d'activation lors de la reconnaissance de peptide présentés spécifiquement par le CMH.



- Le clonage des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  peut permettre la reconstitution d'un TCR transgénique dans un lymphocyte T et rediriger les fonctions de ce dernier contre un antigène tumoral. (June CH, JCI, 2007)

1999: l'équipe de Rosenberg du National Cancer Institute a été la première à rapporter des travaux sur le transfert par voie rétrovirale de TCR ciblant MART-1 (Clay TM, J Immunol 1999)

## Principales étapes du transfert de TCR

Les gènes codant les chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  du TCR sont isolées d'un CTL d'intérêt, clonées dans un vecteur, les virions produits servent à la transduction de LT.

1/ Obtention des LT exprimant un TCR anti-tumoral (TIL, Immunisation souris, PBMC)

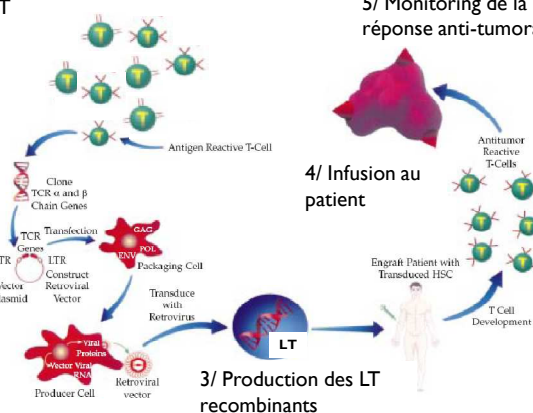
2/ Identification & clonage des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  du TCR

5/ Monitoring de la réponse anti-tumorale

4/ Infusion au patient

3/ Production des LT recombinants

(CLAY TM et al, Pathology oncology research, 1999)

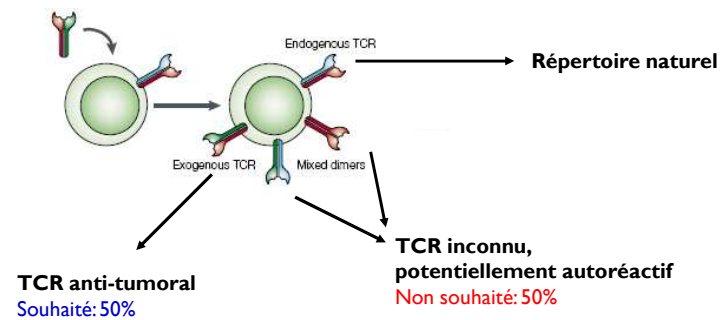


## TCR reprogrammation, les limites

• 2006: l'équipe de Rosenberg a reprogrammé des LT avec un TCR-tg ciblant MART-1. La première étude d'immunothérapie par transfert de TCR chez des patients atteints de mélanome révèle une faible expression du TCR-tg. (Morgan RA, Science 2006)

• Les limites: La dimérisation croisée des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  endogènes et transgéniques

- réduit le niveau d'expression du TCR-tg anti-tumoral (avidité)
- risque de réactions autoimmunes

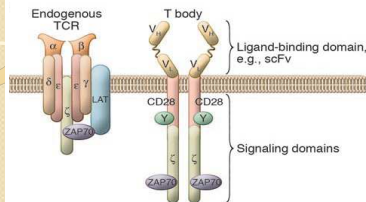


## TCR-tg, études cliniques en cours

Ref: <http://clinicaltrials.gov/ct2/home>

Phase	Date	Patients	Title	Pathology	Identifier	Investigator	Locations
Phase II	2009-2011	22	Adoptive Transfer of MART-1 FS TCR Engineered Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) After a Nonmyeloablative Conditioning Regimen, With Administration of MART-126+35-Pulsed Dendritic Cells and Interleukin-2, in Patients With Advanced Melanoma	Metastatic Melanoma	NCT00910650	Ribas A, Chmielowski B, Economou JS, Gaspy JA	University of California Los Angeles, David Geffen School of Medicine Los Angeles, California, USA
Phase I	2009-2011	48	A Pilot, Open Label, Multi Arm, Single Ctr Study to Evaluate Safety & Tolerability of Escalating Doses of Autologous T Cells Modified With Lentiviral Vectors Expressing High Affinity Gag-specific TCRs in HLA-A02 Patients With HIV	HIV Infections	NCT00991224	Tebas T	University of Pennsylvania Philadelphia, Pennsylvania, USA

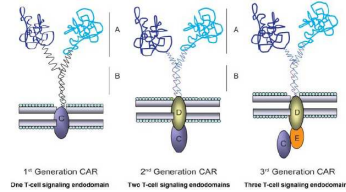
# Chimeric antigen receptors: CAR ou T-bodies



Le clonage de la partie hypervariable d'un anticorps (scFv, chaînes lourde et légère) et son couplage avec les domaines intracellulaires des adaptateurs transduisant le signal des TCR, peut générer un récepteur aux antigènes chimérique appelé T-body

• 1989-1993: Eshhar Z et son équipe ont publié les premiers travaux sur les T-bodies (Gross G, PNAS, 1989; Eshhar Z, PNAS 1993)

- Les CAR ou T-bodies n'ont pas de restriction au CMH, or la majorité des cellules tumorales ou infecté par des virus downregule le CMH cl. donc invisible pour le système immunitaire.
- La réaction Ac/Ag est plus forte que la liaison TCR/CMH-pep
- Parmi les nombreux T-bodies développés, 4 ont été évalués en clinique, 3/4 avec une faible expression (Till BG, Blood 2008; Park JR, Mol Ther 2007; Kershaw MH, Clin Cancer Res 2006); et 1/4 avait un T-body détectable dans les PBMC 2 mois post-infusion (Lamers CH, J Clin Oncol 2006).



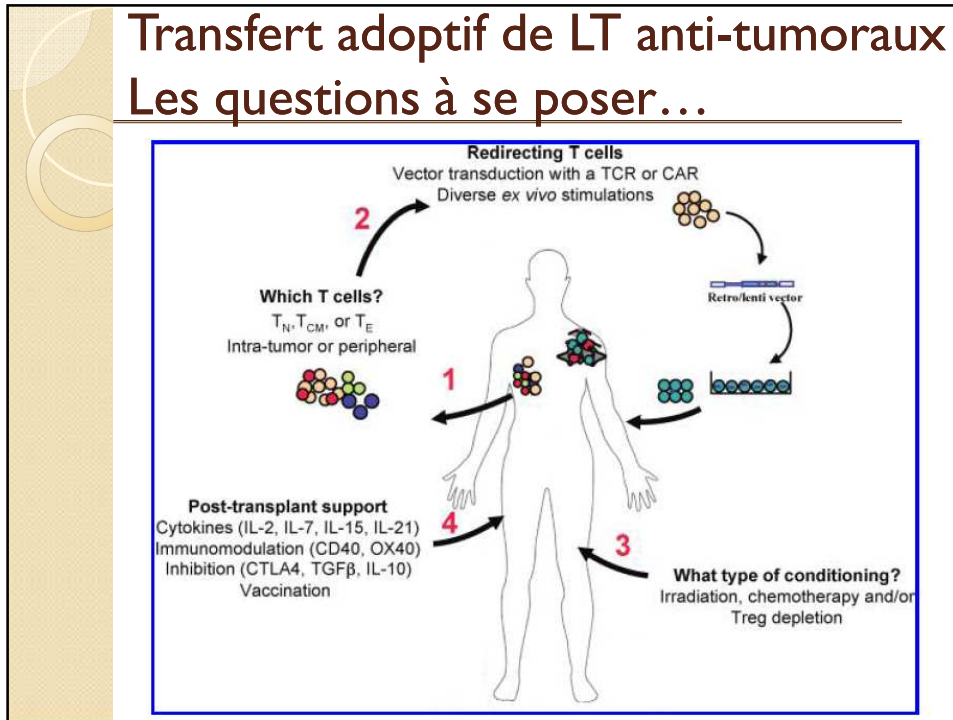
# CAR, études cliniques en cours

Ref: <http://clinicaltrials.gov/ct2/home>

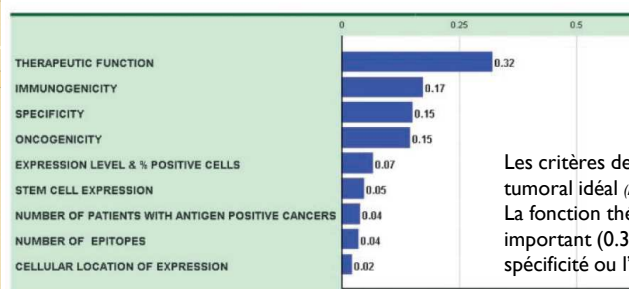
Phase	Date	Patients	Title	Pathology	Identifier	Investigator	Locations
Phase I	2009-2030	18	Phase I Study of Adoptive Transfer of Autologous T Lymphocytes Engrafted With a Chimeric Antigen Receptor Targeting the Kappa Light Chain of Immunoglobulin Expressed in Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia or B-Cell Lymphoma	Chronic Lymphocytic Leukemia (B-CLL), B Cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL)	NCT00881920	Brenner M	The Methodist Hospital and Texas Children's Hospital Houston, Texas, USA
Phase I	2009-2030	30	Administration of Her2 Chimeric Antigen Receptor Expressing T Cells for Subjects With Advanced Osteosarcoma (HEROS)	Osteosarcoma	NCT00902044	Ahmed H	The Methodist Hospital and Texas Children's Hospital Houston, Texas, USA
Phase I	2010-2014	120	Administration of Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor-Transduced T-cells From the Original Transplant Donor to Patients With Recurrent or Persistent B-Cell Malignancies After Allogeneic Stem Cell Transplantation	B Cell Malignancies	NCT01087294		National Institutes of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland, USA
Phase I/II	2011-2031	18	Phase I/II Study of Administration of CMV-specific Cytotoxic T Lymphocytes (CTL) Expressing Chimeric Antigen Receptors Targeting HER2 in Patients With Glioblastoma Multiforme	Brain Cancer	NCT01109095	Ahmed H	The Methodist Hospital & Texas Children's Hospital Houston, Texas, USA
Phase I/II	2009-2001	21	Assessment of the Safety and Feasibility of Administering T Cells Expressing an Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor to Patients With B-cell Lymphoma or Leukemia	LLC, MCL, FL, Small Lymphocytic Lymphoma, Large Cell	NCT00924326		National Institutes of Health Clinical Center, Bethesda, Maryland, USA
Phase I	2009-2030	18	Administration of Her2 Chimeric Receptor and TGFbeta Dominant Negative Receptor (DNR) Expressing EBV Specific Lymphocytes for Subjects With Advanced Her2 Positive Lung	Malignant Neoplasm of Lung	NCT00889954	Gottschalk S	The Methodist Hospital & Texas Children's Hospital Houston, Texas, USA
Phase I	2011-2025	18	Phase I Study of the Administration of EBV CTLs Expressing CD30 Chimeric Receptors for Relapsed CD30+ Hodgkin's Lymphoma and CD30+ Non-Hodgkin's Lymphoma (CAR CD 30)	Hodgkin's Lymphoma Non-Hodgkin's Lymphoma	NCT01192464	Heslop H	The Methodist Hospital & Texas Children's Hospital Houston, Texas, USA
Phase I	2009-2010	10	Pilot Study of Redirected Autologous t Cells Engineered to Contain Anti-cd19 Attached to tcr and 4-1bb Signaling Domains in Patients With Chemotherapy Resistant or Refractory cd19+ Leukemia and Lymphoma	ALL, FL, CLL, MCL, Prolymphocytic Leukemia Large Cell Lymphoma	NCT00891215	Porter D	University of Pennsylvania Philadelphia, Pennsylvania, USA

# Transfert adoptif de LT anti-tumoraux

## Les questions à se poser...



## Choisir le bon antigène! (Martin A, Clin Cancer Res 2009)



Les critères de choix de l'antigène tumoral idéal (Martin A, Clin Cancer Res 2009)  
 La fonction thérapeutique est la plus importante (0.32) comparé à la spécificité ou l'oncogénicité (0.15)

Antigens (rank/reference number and name)	Cumulative score
1. WT1	0.81
2. MUC1	0.79
3. LMP2	0.78
4. HPV E6 E7	0.77
5. EGFRvIII	0.76
6. HER-2/neu	0.75
7. Idiotype	0.75
8. MAGE A3	0.71
9. p53	0.67
nonmutant	
10. NY-ESO-1	0.66

### Antigènes étudiés dans notre équipe

N°	Nom	Score
5	EGFRvIII	0,76
21	Survivin	0,55
22	PSA	0,54
23	hTERT	0,54
47	PLAC1	0,39

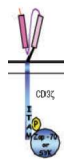
Découverte d'une nouvelle protéine:  $\Delta$ CD20  
(Deschamps M et al, Blood 2010)

## En conclusion

**LT exprimant un CAR ou T-body**

- mAb → Ag spécifique
- Transmission du signal → cytotoxicité

CMH non restreint  
→ CD4+ & CD8+



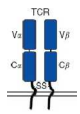
**Lymphokine activated killer cells (LAK)**

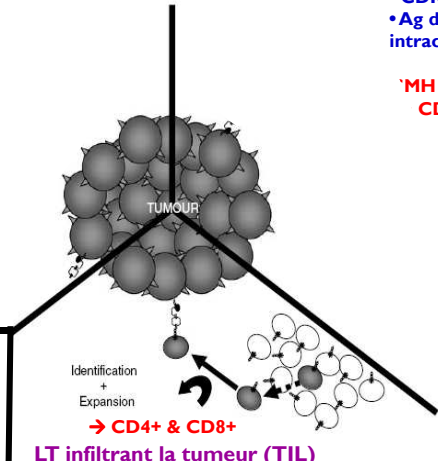
PBMC activés via IL-2  
CMH non restreint

**LT exprimant un TCR-tg**

- CDR3 → Ag spécifique
- Ag de surface & intracellulaire

MH restreint  
CD4+ / CD8+







Identification + Expansion  
→ CD4+ & CD8+  
**LT infiltrant la tumeur (TIL)**

*Mansoor et al, British Journal*

## Equipe: TIM-C

### Thérapeutique immunomoléculaire des cancers





**Pr Christophe Borg**

Dr Christophe Ferrand  
Dr Olivier Adotevi  
Dr Yann Godet  
Dr Marina Deschamps

Jean-Paul Rémy Martin  
Jean-René Pallandre  
Jérémy Balland  
Jean-Marie Certoux  
Idir Idirén  
Patricia Letondal  
Anne Duperrier

Etudiants:  
Elise Robert  
Magalie Dosset  
Charline Vauchy

