

Le rôle des lymphocytes T régulateurs dans l'activité antitumorale des anticorps anti-CTLA-4

Kevin Thierry¹, Christine Ménétrier-Caux²

► En plus des stratégies conventionnelles (i.e. exérèse de la tumeur, radiothérapie et/ou chimiothérapie) utilisées pour traiter les cancers solides, la recherche contre le cancer a connu des avancées ces dernières années avec le développement de nouvelles voies thérapeutiques telles que les thérapies ciblées et les immunothérapies.

Au cours de la progression tumorale, les cellules cancéreuses développent des stratégies d'échappement au contrôle du système immunitaire en partie *via* la mise en place d'un microenvironnement tumoral immunosuppresseur. Les cellules cancéreuses peuvent modifier l'expression de signaux d'activation des lymphocytes T (LT), mais aussi recruter ou promouvoir la différenciation de populations immunosuppressives comme les LT régulateurs (Treg) ou les macrophages de type M2. Les nouvelles immunothérapies sont fondées sur le ciblage et la réactivation des cellules immunitaires effectrices dans le microenvironnement tumoral. L'activation des LT nécessite trois signaux aujourd'hui bien caractérisés : la présentation du peptide antigénique par la cellule présentatrice de l'antigène (CPAg), le signal de costimulation (*via* une interaction entre CD80/CD86 sur la CPAg et CD28 sur le LT) et le signal cytokinique. Les points de contrôle immunitaires, (en anglais *immune checkpoint*, ICP) sont des molécules qui permettent une régulation positive ou négative de l'activité du LT selon le contexte immunitaire. CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated*

protein 4, CD152), un des premiers ICP décrit à la fin des années 1980 [1], est un récepteur transmembranaire (de 25 kDa) qui participe, du fait de sa plus forte affinité pour les récepteurs CD80/CD86 sur la CPAg, à l'immunosuppression en diminuant indirectement la signalisation *via* CD28 pendant la présentation de l'Ag. Ceci augmente le seuil d'activation des LT et réduit la réponse aux Ag de faible affinité. De plus, l'interaction entre CTLA-4 sur le LT et CD80/CD86 sur la CPAg peut entraîner un phénomène de transendocytose qui correspond au transfert de CD80/CD86 de la CPAg vers le LT réduisant la capacité de la CPAg à stimuler le LT *via* CD28. Les souris déficientes pour CTLA-4 globalement ou uniquement dans les Treg développent des troubles lymphoprolifératifs qui détruisent les organes vitaux suggérant un rôle central de CTLA-4 dans la tolérance immunitaire.

La présence de Treg dans le microenvironnement tumoral est associée à un mauvais pronostic et à un développement métastatique dans de nombreuses tumeurs solides [2]. CTLA-4, au vu de ses fonctions, a représenté une cible thérapeutique pionnière en immunothérapie [3]. En effet, bloquer le signal CTLA-4 par un anticorps (Ac) permet de restaurer le signal de costimulation et d'activer les LT. Différentes équipes ont rapporté la forte expression par les Treg intratumoraux des principaux ICP, rhéostats qui permettent, en fonction des situations, la régulation positive ou négative de leurs fonctionnalités.

¹Université Claude Bernard Lyon 1, 69000 Lyon, France.

²Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Inserm U1052, CNRS 5286, Centre Léon Bérard, Centre de Recherches en Cancérologie de Lyon, 69008 Lyon, France.

Kevin.thierry@etu.univ-lyon1.fr

Christine.caux@lyon.unicancer.fr

Les anticorps anti-CTLA-4 dans le traitement des cancers

Les modes d'action des anticorps anti-CTLA-4

Le mode d'action proposé pour expliquer le rejet tumoral induit par les Ac anti-CTLA-4 passe par leur capacité à favoriser le « *priming* » des LT naïfs dans les organes lymphoïdes drainants la tumeur et promouvoir leur prolifération. Des données plus récentes suggèrent des mécanismes alternatifs tels que le blocage de la transendocytose des molécules CD80/CD86 sur les CPAg et surtout la déplétion des Treg dans la tumeur. En effet, en plus de leur activité d'inhibiteurs compétitifs de l'interaction entre CD80/CD86 et CD28, il a récemment été démontré que les Ac anti-CTLA-4 peuvent induire une déplétion des cellules CTLA-4⁺ par un mécanisme d'ADCC (*antibody-dependent cellular cytotoxicity*). L'*ipilimumab*, Ac d'isotype IgG1, développé par James Allison (prix Nobel de physiologie ou médecine en 2018), montre *in vitro* une capacité de déplétion des Treg CTLA-4⁺ en présence de monocytes et de cellules NK (*natural killer*) exprimant différents types de récepteurs des IgG (RFcγ). Une étude récente montre que la déplétion des Treg dans l'environnement tumoral joue un rôle clef dans l'effet thérapeutique des Ac anti-CTLA-4 [4]. Ces observations sont en accord avec une autre étude réalisée chez la souris qui démontre que, non seulement l'homologue murin de l'*ipilimumab*



ne bloque pas la transendocytose de CD80/CD86, mais qu'en plus le blocage de l'interaction CD80/CD86 - CTLA-4 n'est pas nécessaire à une réponse thérapeutique qui dépend majoritairement des RFcy de l'hôte [5].

Ces observations suggèrent que le choix de l'isotype pour ces Ac thérapeutiques anti-ICP est très important puisque qu'une partie du mécanisme d'action implique leur fixation aux RFcy.

Deux anticorps thérapeutiques, ipilimumab versus trémélimumab ; une efficacité différente ?

L'*ipilimumab* a obtenu l'autorisation de mise sur le marché en 2011 pour le traitement des mélanomes avancés suite à des essais cliniques rapportant une efficacité chez 10 à 20 % des patients avec des réponses cliniques durables. Le traitement par l'*ipilimumab* est fréquemment associé à des toxicités sévères de type auto-immun dont la prise en charge clinique est aujourd'hui améliorée. Ces manifestations auto-immunes démontrent sur le plan biologique que cet Ac affecte probablement le nombre ou la fonctionnalité des Treg. Un autre Ac anti-CTLA-4, le *trémélimumab*, d'isotype IgG2a a été développé pour diminuer l'activation du complément et les risques de relargage cytokinique liés à la fixation aux RFcy. Cependant, même si des réponses ont été observées chez certains patients traités avec le *trémélimumab*, l'étude de phase III n'a pas démontré d'efficacité supérieure à la chimiothérapie.

Cette différence d'efficacité thérapeutique ne résulte pas de l'épitope reconnu sur CTLA-4 puisque les deux Ac se fixent sur la même région de la molécule avec la même affinité. Néanmoins il est à noter qu'ils diffèrent légèrement dans leurs paratopes et dans leur cinétique de fixation, avec une interaction CTLA-4 – *ipilimumab* moins stable [6]. Cependant, ces données ne suffisent pas à expliquer les différences cliniques observées qui pourraient résulter de la variation dans la région Fc des Ac.

Les Ac anti-CTLA-4 entraînent une déplétion des Treg dépendante de la région Fc

La déplétion des Treg par les Ac anti-CTLA-4 repose sur un mécanisme d'ADCC dépendant des cellules RFcy* du microenvironnement tumoral

Les différences inter-espèces entre l'homme et la souris concernant les récepteurs RFcy rendent difficile l'évaluation de l'implication des mécanismes dépendant de ces récepteurs dans l'activité *in vivo* des Ac thérapeutiques humains [7]. Pour contourner ces difficultés, Arce-Vargas *et al.* [4], ont utilisé un modèle, développé précédemment, de souris transgéniques exprimant les RFcy humains (hRFcy).

La comparaison du micro-environnement des tumeurs humaines ou implantées chez la souris hRFcy, montre un patron d'expression des hRFcy proche, même si certaines différences non anecdotiques existent : 1) la présence de hRFcyI sur les polynucléaires neutrophiles, les cellules NK et les lymphocytes B (LB) chez la souris hRFcy mais pas chez l'homme ; 2) la présence de hRFcyIIA sur les cellules NK et les LB dans l'environnement tumoral chez la souris, ce qui n'est pas le cas chez l'homme ; 3) la présence de hRFcyIIB sur les monocytes et macrophages uniquement dans l'environnement tumoral chez l'homme alors qu'il est exprimé aussi en périphérie chez la souris.

L'objectif de cette étude était d'évaluer, dans les souris hRFcy, l'efficacité anti-tumorale 1) d'anticorps chimériques dirigés contre CTLA-4 de souris et ayant des régions Fc humaines issues d'IgG1 et d'IgG2 humaines et 2) d'IgG1 humaines anti-CTLA-4 dont les séquences de la région Fc ont été mutées, conduisant soit à une perte de capacité de fixation aux RFcyIIA et RFcyIIIA (hIgG1_{N297A}), soit à une affinité accrue pour tous les RFcy (hIgG1_{SDALIE}).

Cette évaluation a été réalisée dans trois modèles tumoraux murins différemment infiltrés en cellules immunitaires : deux « tumeurs chaudes » for-

tement infiltrées (MCA205, MC38) et une « tumeur froide » très faiblement infiltrée (B16). Ces tumeurs se différencient aussi par le niveau d'expression des RFcy sur les populations immunitaires innées.

L'efficacité des anticorps anti-CTLA-4 dépend de la région Fc

Les travaux de Selby *et al.* [8] ont démontré chez la souris, dans des modèles tumoraux syngéniques (MC38, CT26), que l'efficacité thérapeutique des Ac anti-CTLA-4 murins dépend des isotypes utilisés. Les mIgG2a et mIgG2b, qui se fixent sur les RFcy activateurs et induisent une ADCC efficace, favorisent la déplétion des Treg uniquement dans l'environnement tumoral et inhibent la croissance tumorale. Au contraire, les isotypes mIgG1, qui se fixent sur le RFcy inhibiteur, RFcyIIB, qui n'induit pas d'ADCC, n'impactent pas la croissance tumorale (Figure 1).

Arce-Vargas *et al.* [4], apportent la preuve, dans le modèle murin RhFcy, que les anti-CTLA-4 d'isotype hIgG2, hIgG1 et hIgG1_{SDALIE} déplètent les Treg dans l'environnement tumoral.

L'abrogation de la déplétion observée avec l'isotype hIgG2 dans les souris hRFcyIIa-déficientes, démontre l'importance de ce récepteur activateur dans l'efficacité de cet isotype. La version hIgG1_{SDALIE}, qui a une affinité accrue pour le RFcyIIIA, accroît fortement l'efficacité du traitement. Ces résultats confirment le concept selon lequel la forte expression membranaire de CTLA-4 par les Treg, spécifiques de l'environnement tumoral, favorise leur élimination par ADCC lors du traitement par les Ac anti-CTLA-4. Cette déplétion est associée à une prolifération et une production accrue d'IFN γ par les LT CD4⁺ conventionnels et les LT CD8⁺ intra-tumoraux, confirmant ainsi la levée de l'immunosuppression dépendante des Treg.

Dans les tumeurs chaudes, l'efficacité thérapeutique des Ac anti-CTLA-4 est directement corrélée au niveau de déplétion des Treg et dépend de l'isotype, alors que dans la tumeur froide, les différents isotypes n'ont

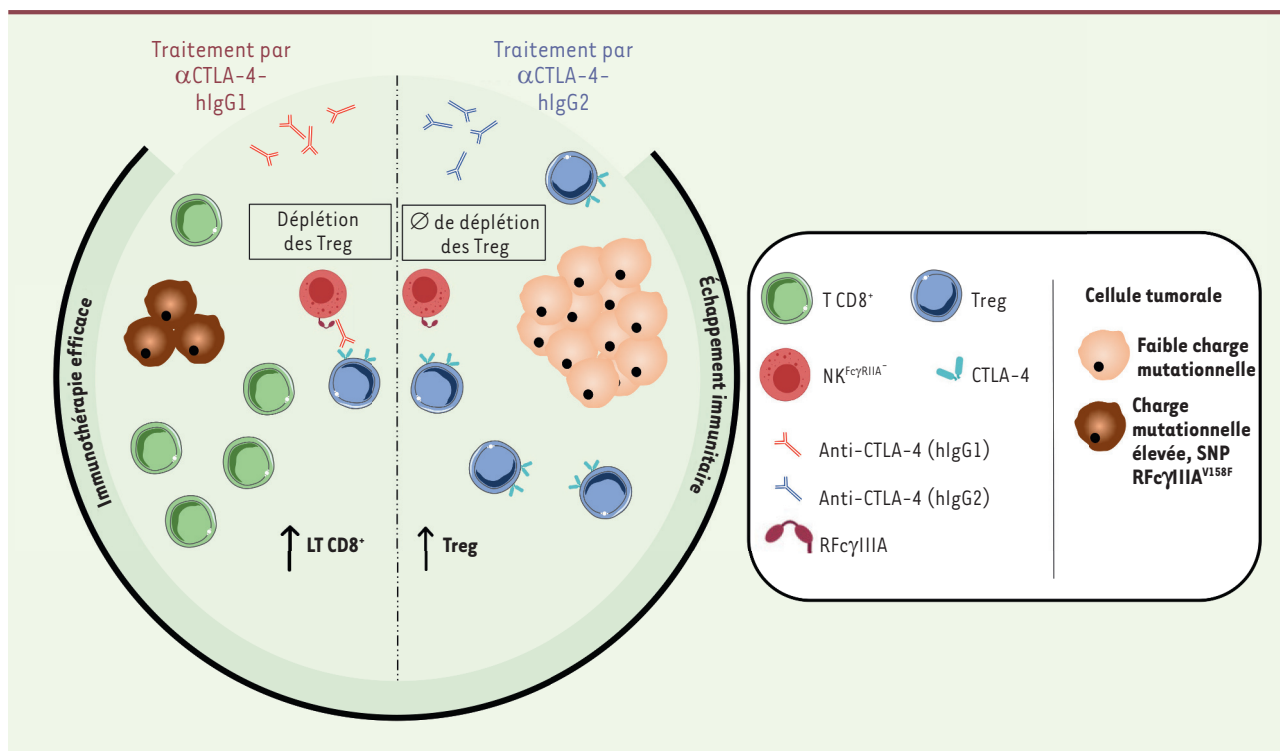


Figure 1. Chez l'homme, l'activité anti-tumorale des anticorps anti-CTLA-4 dépend d'une déplétion des Treg intra-tumoraux par ADCC qui n'est observée qu'avec l'isotype IgG1. L'activité des anti-CTLA-4 est optimale dans un contexte de forte charge mutationnelle chez des patients présentant le SNP RFcγIIIA^{V158F}. Ø : Absence

aucun impact sur la survie des souris même en utilisant des doses plus fortes d'Ac. Ces observations suggèrent que la réponse thérapeutique des Ac anti-CTLA-4 dépend de la déplétion des Treg intra-tumoraux via un mécanisme d'ADCC qui dépend de l'isotype de l'Ac thérapeutique et de l'infiltrat intra-tumoral de cellules RFcγ⁺ (en particulier les cellules myéloïdes ou les cellules NK chez la souris) capables d'induire ce type de mécanisme.

L'action des Ac anti-CTLA-4 chez l'homme

L'activité des Ac anti-CTLA-4 est influencée par un terrain génétique particulier et par la charge mutationnelle tumorale

Les polymorphismes mononucléotidiques (SNP) des RFcγIIIA (V158F) et RFcγIIA (H131R) observés respectivement dans 10-15 % et 28 % de la population caucasienne, augmentent l'affinité de fixation des hlgG1 et des hlgG2 respectivement

et sont associés à une meilleure réponse clinique dans le cas d'immunothérapies ciblant les cellules tumorales (*rituximab*, *trastuzumab*, *cétuximab*).

La charge mutationnelle qui correspond au nombre de mutations présentes dans la tumeur, et les néo-antigènes, conséquences de mutations passagères non-oncogéniques ont été identifiés comme des marqueurs prédictifs de réponse à l'*ipilimumab* dans le mélanome métastatique, suggérant que la mise en place d'une réponse T spécifique de ces néo-antigènes pourrait être réactivée par l'élimination des Treg induite par l'*ipilimumab*. En utilisant les analyses de *RNAseq* de tumeurs de deux cohortes de patients atteints de mélanome métastatique traités par *ipilimumab*, Arce-Vargas *et al.* ont démontré que dans le cas de tumeurs ayant une forte charge mutationnelle, la proportion de réponses cliniques augmente fortement chez les patients porteurs du SNP RFcγIIIA^{V158F} alors que ce SNP n'a pas d'impact lorsque

les tumeurs présentent une faible charge mutationnelle [4]. L'expression du SNP RFcγIIA^{H131R} n'a pas d'impact puisqu'il est associé à une affinité accrue pour les hlgG2 et non les hlgG1.

La déplétion des Treg dans l'environnement tumoral après traitement par des Ac anti-CTLA-4 est controversée

Comme rapporté plus haut, il existe chez la souris un consensus [4,8] quant à la capacité des Ac anti-CTLA-4 à dépléter les Treg dans l'environnement tumoral, alors que très peu de données sont disponibles chez l'homme. Le groupe de Sharma [9], qui a récemment analysé le microenvironnement tumoral par immunohistochimie, dans des biopsies de tumeurs solides pré- et post-traitement avec l'*ipilimumab* ou le *trémélimumab*, indique que, contrairement aux données obtenues chez la souris, les Ac anti-CTLA-4 chez l'homme, quel que soit l'isotype, augmentent l'infiltration des LT CD8⁺ et CD4⁺ sans dépléter les Treg intra-tumoraux. Cependant, ces résultats

sont en contradiction avec une autre étude chez des patients atteints de mélanome métastatique traitées par *ipilimumab*, qui démontre une forte réduction du nombre de Treg intra-tumoraux post-traitement chez les patients répondeurs [10].

L'absence de modulation des Treg dans la tumeur rapportée par Sharma *et al.* [9], peut résulter de l'analyse de biopsies réalisées à des temps tardifs post-traitement (> 5 semaines). En effet, des données de cinétique chez la souris démontrent que la déplétion des Treg est observée rapidement (2-5 jours) après traitement par les Ac anti-CTLA-4 [4]. Cette déplétion n'est sans doute plus détectable 5 à 8 semaines post-traitement du fait du recrutement de Treg périphériques non altérés. De plus, compte tenu du faible pourcentage de patients répondeurs, il aurait été intéressant de ségréger sur la réponse au traitement puisque cette diminution ne devrait être observée que chez les répondeurs.

Perspectives

L'ensemble de ces observations suggère que le développement de nouveaux Ac anti-CTLA-4, présentant une activité cytotoxique augmentée (comme les Ac de type hlgG1_{SDALIE}, par exemple) pourrait être une

stratégie intéressante pour améliorer le taux de réponse chez les patients traités. Malgré des résultats précliniques encourageants, une prudence est de mise quant aux effets secondaires d'une cytotoxicité accrue des anticorps anti-CTLA-4 puisque d'autres cellules telles que les LT CD8⁺ peuvent exprimer CTLA-4 après stimulation de leur récepteur (TCR). De plus, la détection du SNP RfcγIIIA^{V158F} et l'analyse de la charge mutationnelle de la tumeur permettraient de sélectionner des patients plus aptes à répondre. L'expression des Rfcγ par l'infiltrat immunitaire dans l'environnement tumoral joue un rôle clef dans l'efficacité des thérapies si l'on souhaite éliminer une population délétère par ADCC. Il serait donc judicieux de cibler des tumeurs chaudes infiltrées par des cellules immunitaires et d'analyser en détail les cellules accessoires présentes dans le microenvironnement tumoral. Enfin, il faut garder en tête que les ICP sont exprimés par des populations cellulaires autres que les Treg. Il est donc primordial de maîtriser la cinétique de traitement pour éviter une déplétion des LT effecteurs de la réponse anti-tumorale exprimant ces ICP après activation. ♦

Treg cell contribution to anti-CTLA-4 therapeutic effect

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Brunet J-F, Denizot F, Luciani M-F, *et al.* A new member of the immunoglobulin superfamily-CTLA-4. *Nature* 1987 ; 328 : 67.
2. Ménétrier-Caux C, Curiel T, Faget J, *et al.* Targeting regulatory T cells. *Targ Oncol* 2012 ; 7 : 15-28.
3. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 1996 ; 271 : 1734-6.
4. Arce Vargas F, Furness AJS, Litchfield K, *et al.* Fc Effector function contributes to the activity of human Anti-CTLA-4 antibodies. *Cancer Cell* 2018 ; 33 : 649-63.e4.
5. Du X, Tang F, Liu M, *et al.* A reappraisal of CTLA-4 checkpoint blockade in cancer immunotherapy. *Cell Res* 2018 ; 28 : 416-32.
6. He M, Chai Y, Qi J, *et al.* Remarkably similar CTLA-4 binding properties of therapeutic ipilimumab and tremelimumab antibodies. *Oncotarget* 2017 ; 8 : 67129-39.
7. Bruhns P. Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models. *Blood* 2012 ; 119 : 5640-9.
8. Selby MJ, Engelhardt JJ, Quigley M, *et al.* Anti-CTLA-4 antibodies of IgG2a isotype enhance antitumor activity through reduction of intratumoral regulatory T cells. *Cancer Immunol Res* 2013 ; 1 : 32-42.
9. Sharma A, Subudhi SK, Blando J, *et al.* Anti-CTLA-4 immunotherapy does not deplete FOXP3+ regulatory T cells (Tregs) in human cancers. *Clin Cancer Res* 2019 ; 25 : 1233-8.
10. Romano E, Kusio-Kobialka M, Foukas PG, *et al.* Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells ex vivo by nonclassical monocytes in melanoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015 ; 112 : 6140-5.



m/s
médecine/sciences

**Avec m/s, vivez en direct
les progrès et débats
de la biologie et de la médecine**

**CHAQUE MOIS / AVEC LES ARTICLES DE RÉFÉRENCE DE M/S
CHAQUE JOUR / SUR WWW.MEDECINESCIENCES.ORG**

Abonnez-vous sur
www.medecinesciences.org