



**UN RÉCEPTEUR CHIMÉRIQUE À L'ANTIGÈNE (CAR T-CELL)
DE 3E GÉNÉRATION EST CYTOTOXIQUE CONTRE LA CELLULE SOUCHE
LEUCÉMIQUE EXPRIMANT LA PROTÉINE IL-1RAP"**

Dr Christophe FERRAND

EFSBFC – INSERM UMR1098 – UBFC

Laboratoire d'Onco-Hématologie Moléculaire

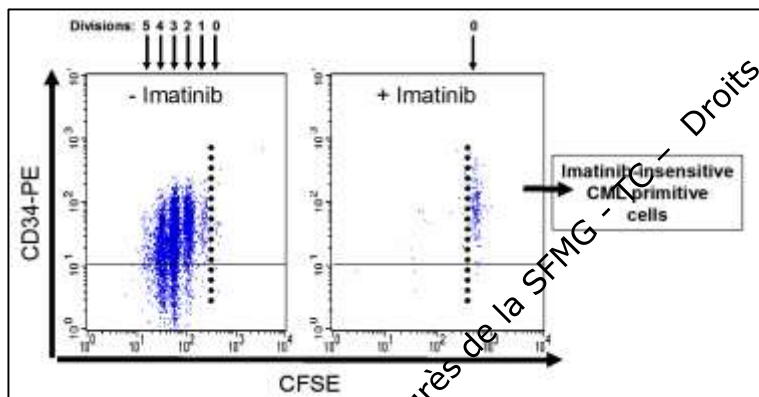
Besançon

Montpellier, 22 novembre 2018

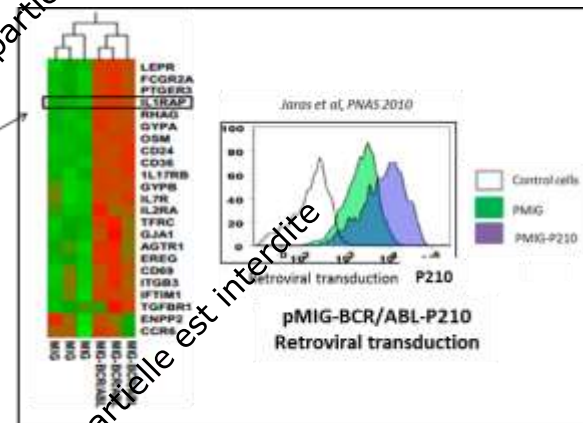
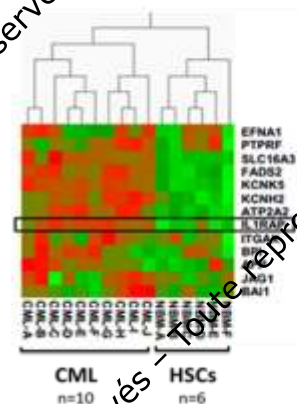


Expression d'IL-1RAP par la cellule souche hématopoïétique leucémique LMC

Cellules souches leucémiques persistantes après iTKs

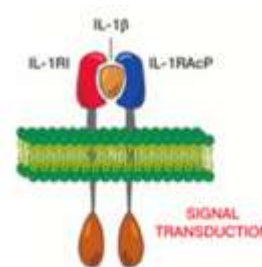


Transcriptomique



Järås M, et al. PNAS (2009)

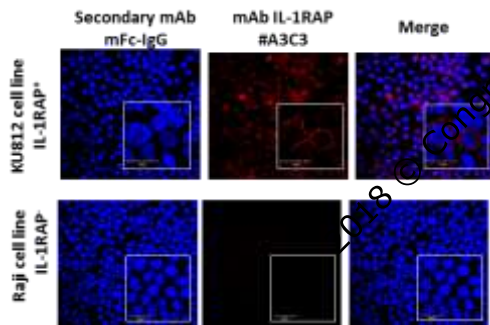
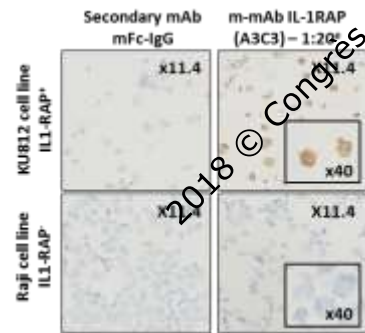
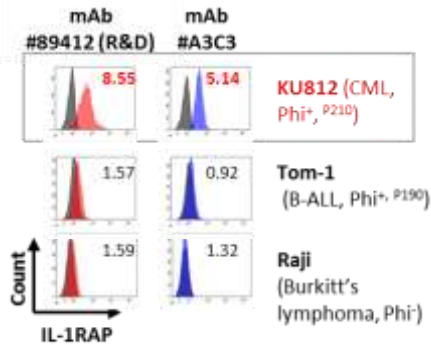
- IL-1RAP est exprimée à la surface des cellules souches leucémiques (HSC)
- Pas exprimée sur les cellules souches hématopoïétiques normales
- Peu d'expression sur les tissus sains (sinon monocytes)
- IL-1RAP est exprimée dans différentes hémopathies malignes



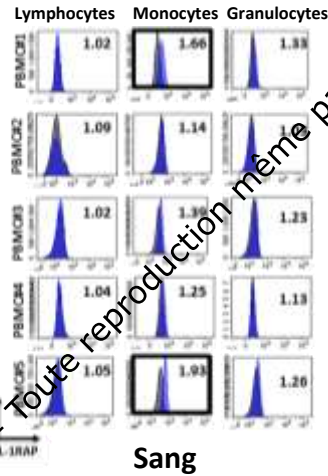
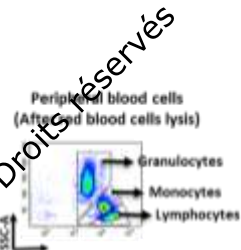
-> IL-1RAP est un candidat au ciblage par immunothérapie CART-cells

Caractérisation et spécificité de l'AcMo IL-1RAP (#A3C3)

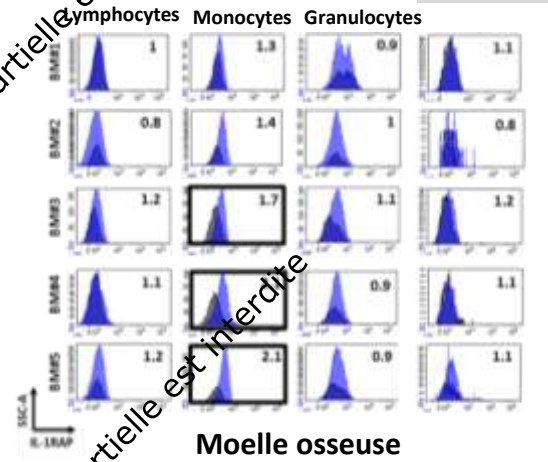
Criblage sur lignées cellulaires



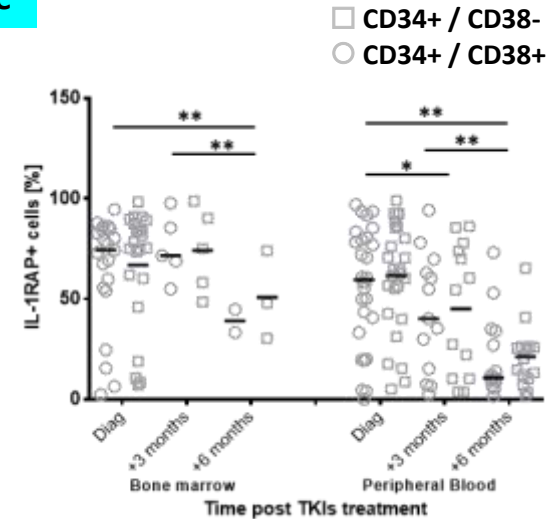
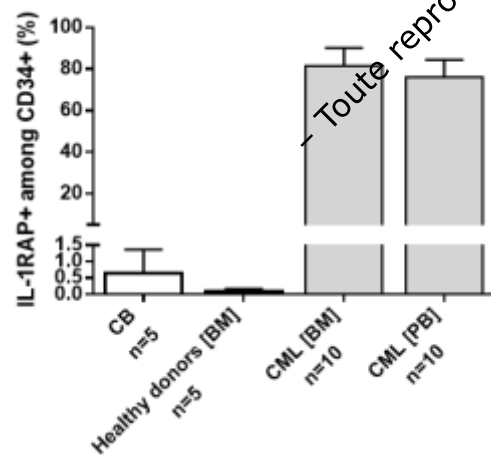
Marquage prélèvements de donneurs sains



HSC CD34+



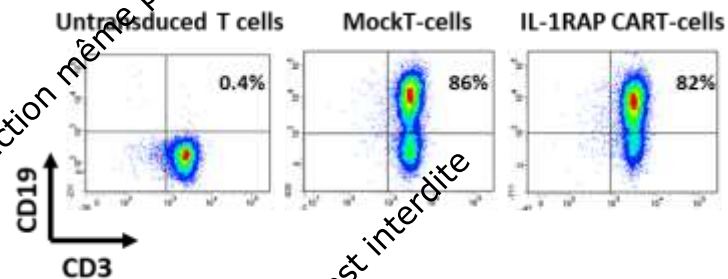
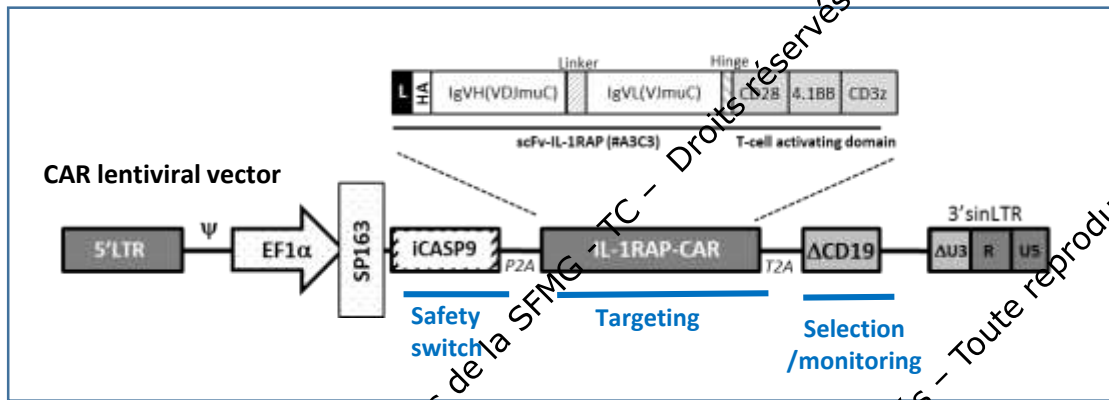
Marquage de prélèvements de patients DMC



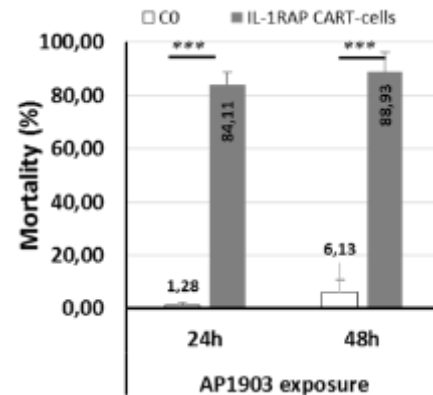
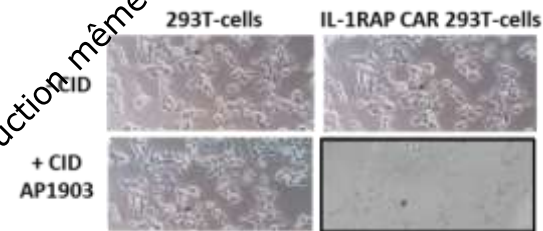
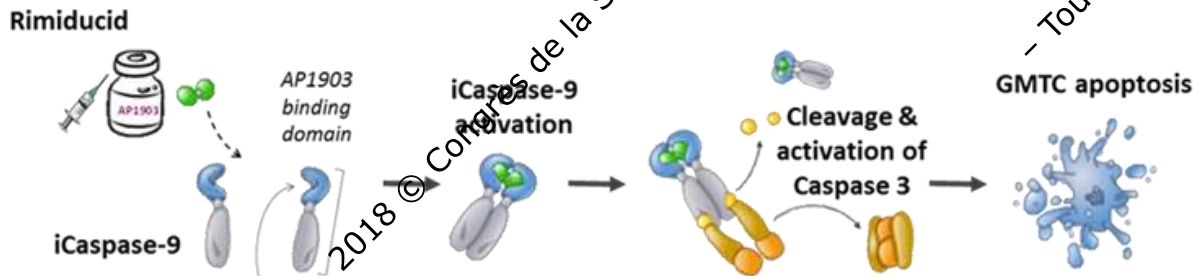
2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Vecteur lentiviral : CART-cell de 3eme génération, sécurisé par un gène suicide et un système de sélection

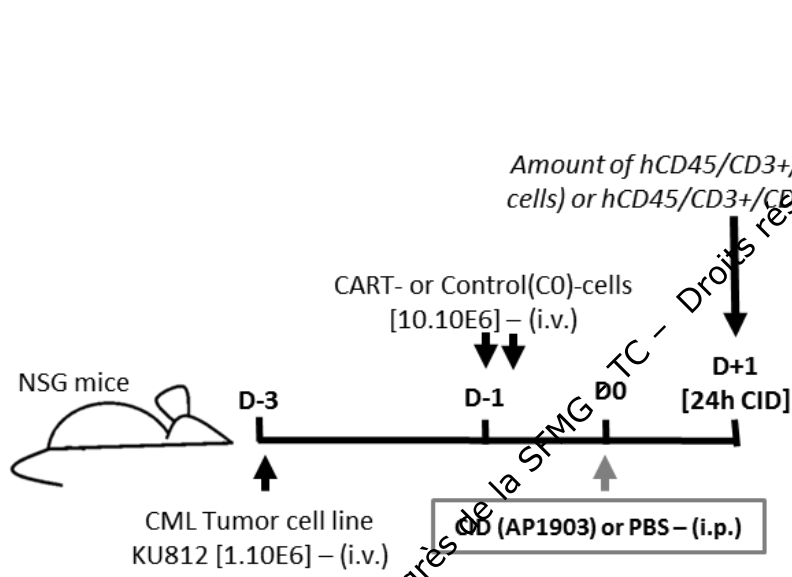
CAR de 3eme génération (CD28/4.1BB/CD3z), sécurisé par un gène suicide (iCASP9) et un système de sélection (Δ CD19)



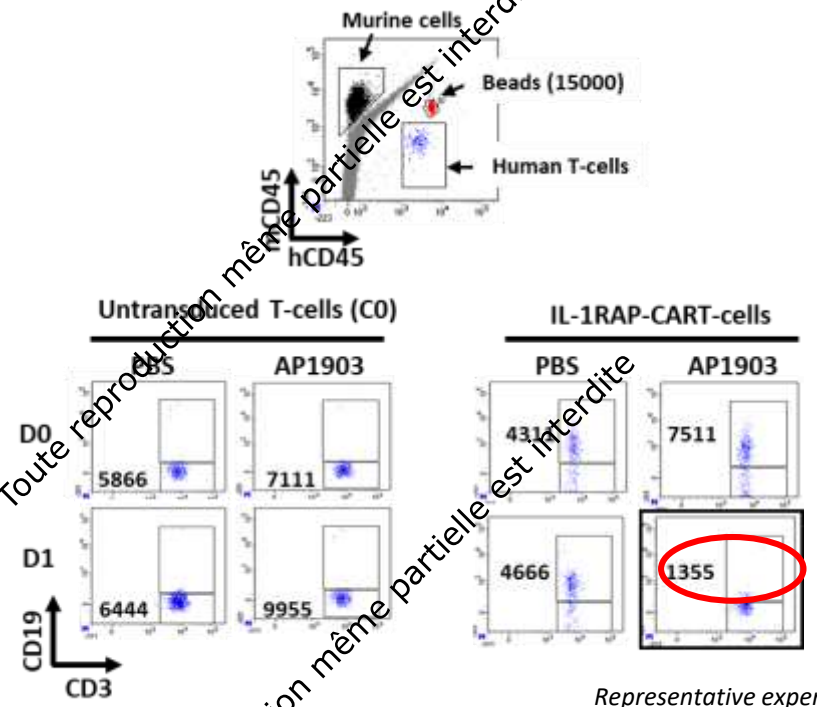
Safety switch iCASP9 / AP1903



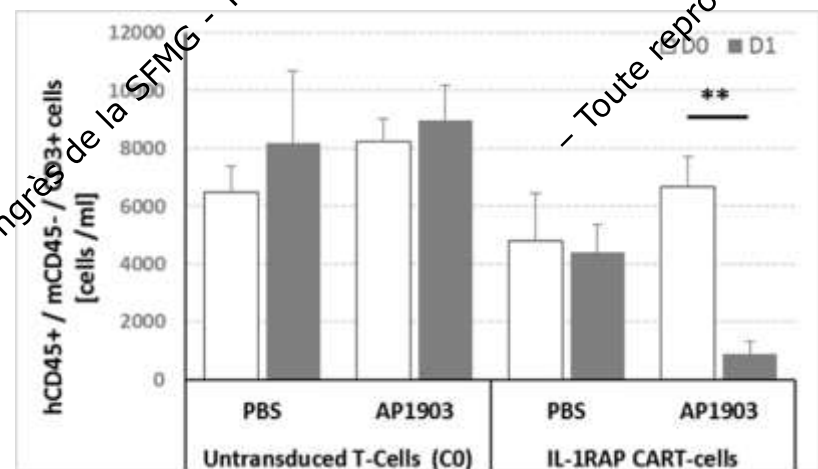
Efficacité du « safety switch » iCASP9 / AP1903 *in-vivo*



Amount of hCD45/CD3+/CD19+ (CART-cells) or hCD45/CD3+/CD19- (CO) - (RO)



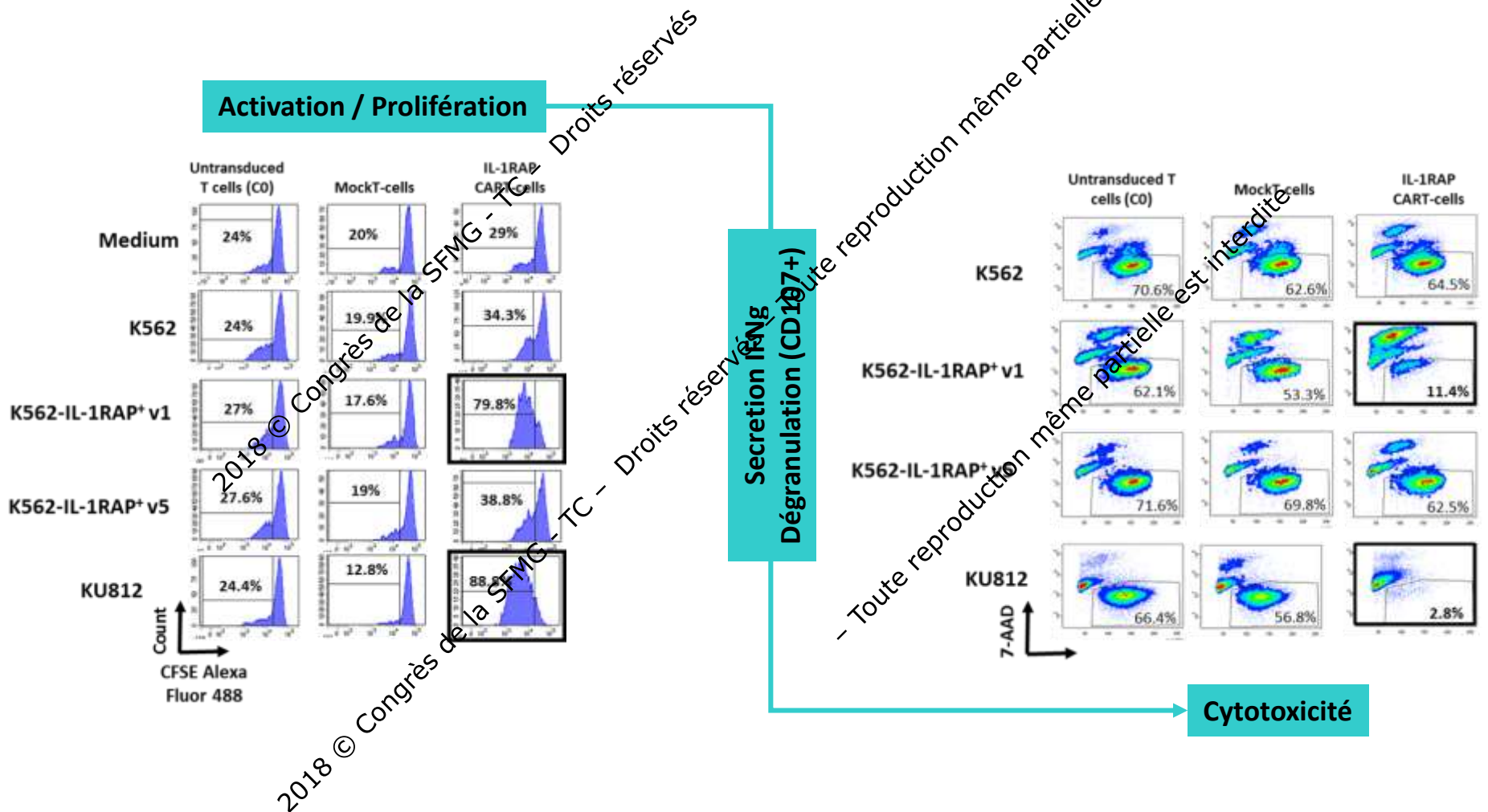
Representative experiment



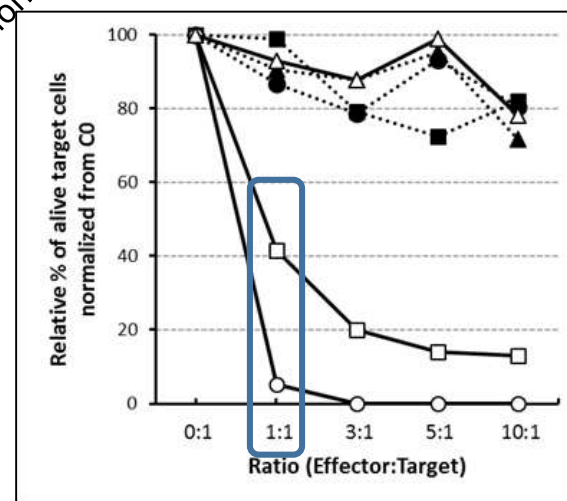
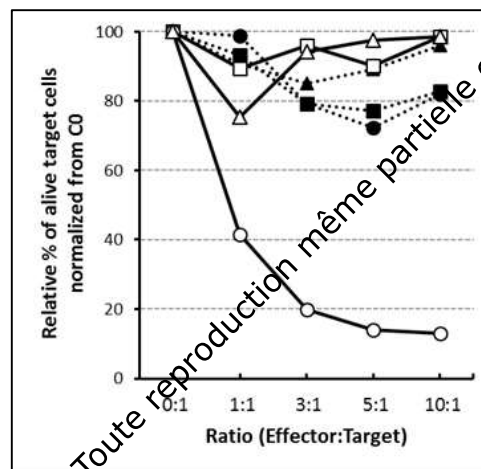
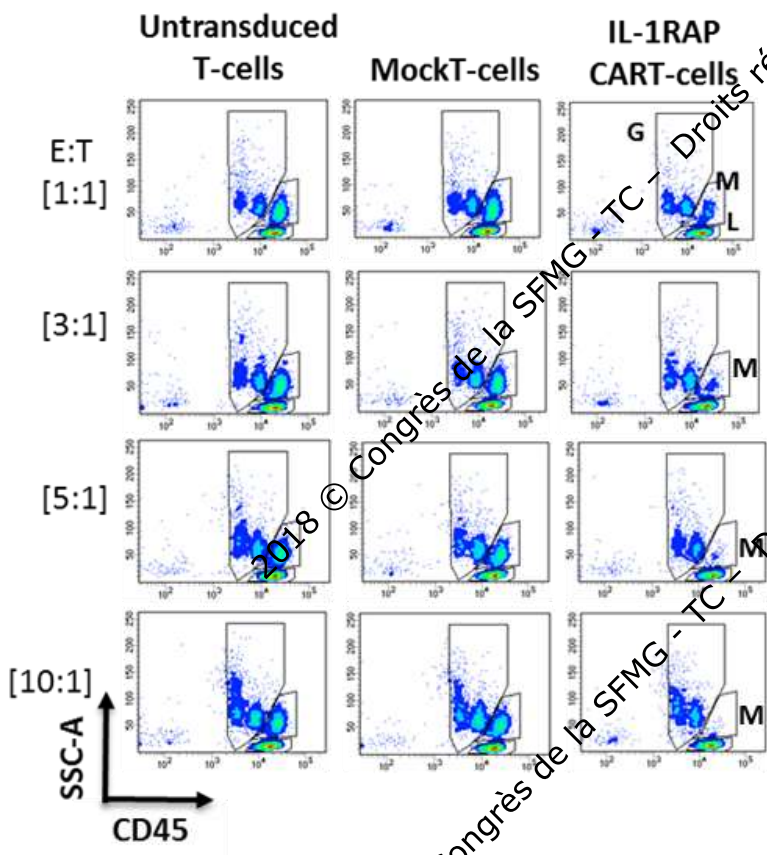
2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Fonctionnalité *in-vitro* des CART-cells IL-1RAP

Activation [CFSE], Sécrétion INF γ , Dégranulation [CD107], cytotoxicité



Toxicité *in-vitro* des CART-cells autologues IL-1RAP

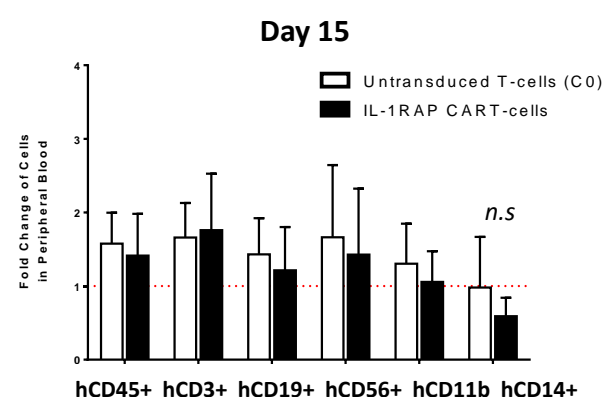
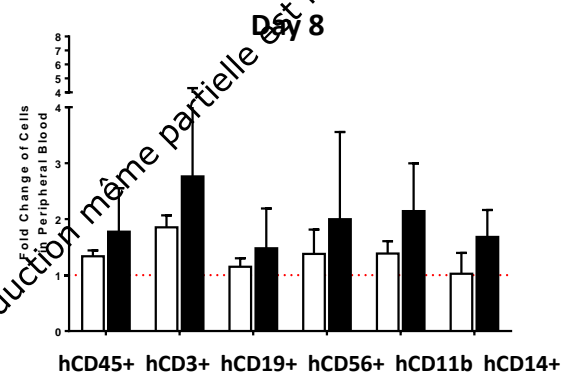
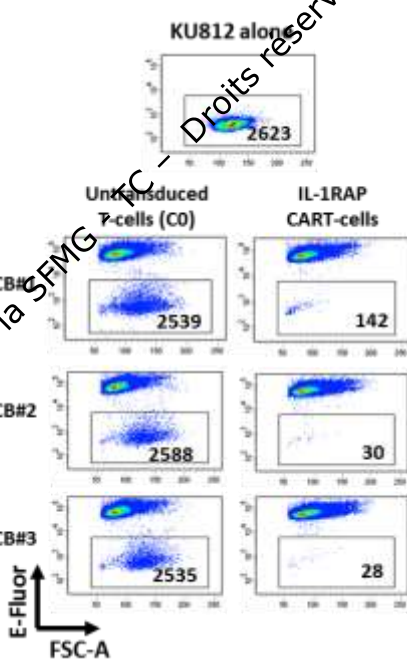
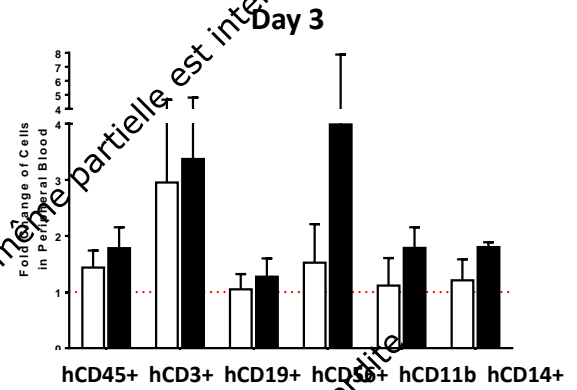
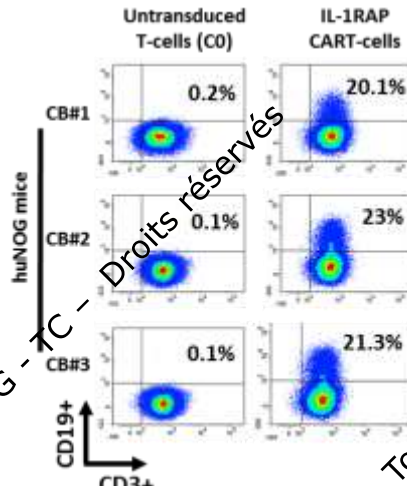
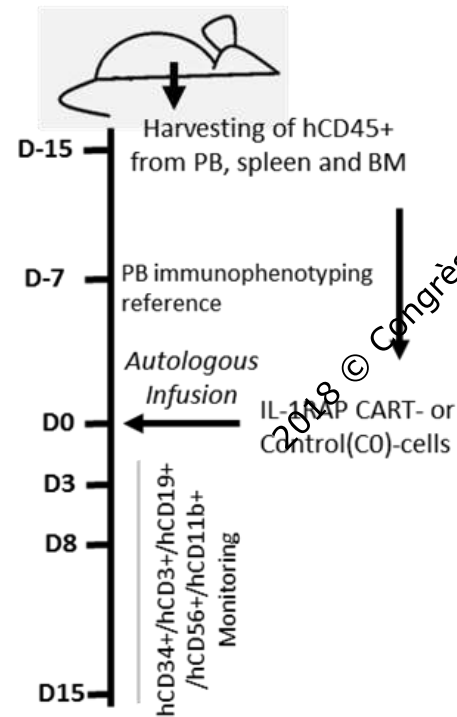


2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

Toute reproduction même partielle est interdite.

« Immunosafety » des CART-cells IL-1RAP dans un modèle murin hCD34+ (CB)

Hu-NOG mice (engrafted with hCD34+ cord blood cells)

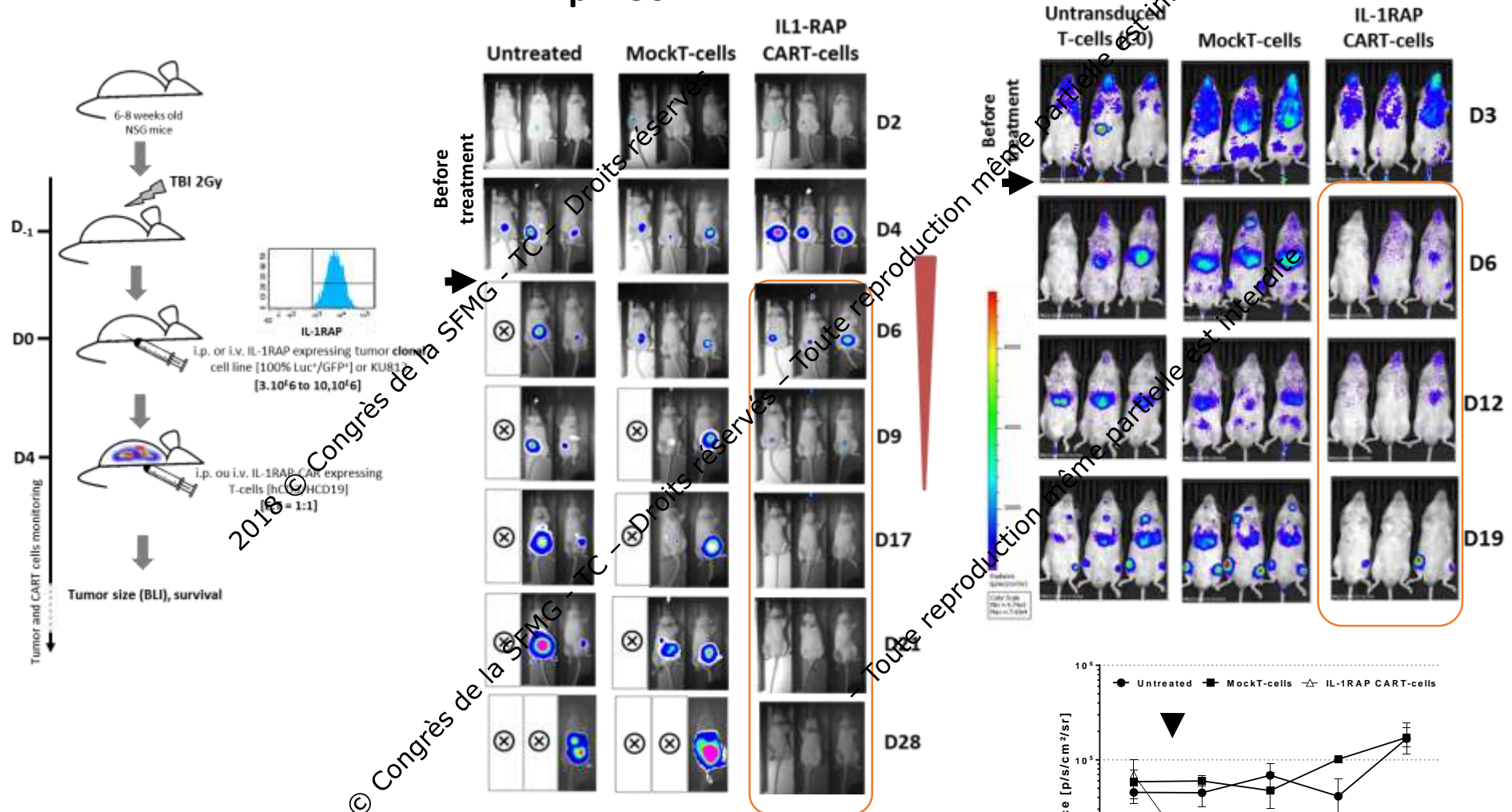


2018 © Congrès de la SFMG - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

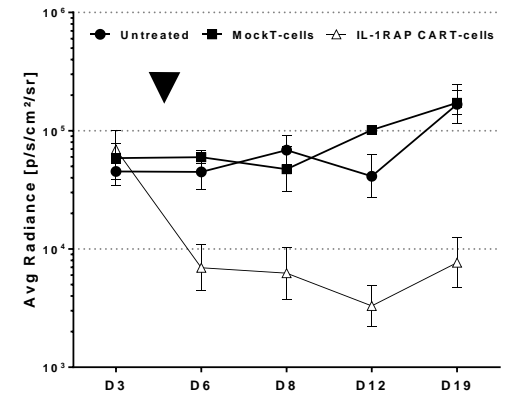
Fonctionnalité *in-vivo* des CART-cells IL-1RAP

Warda et al, Cancer Res (sous presse)

i.p. K562 IL-1RAP+



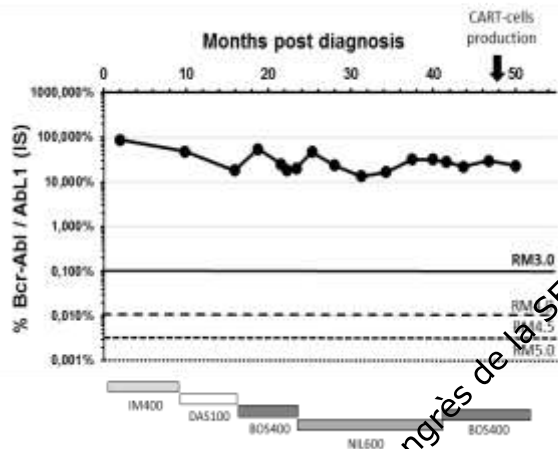
Effect anti leucémique *in-vivo* dans un modèle murin NSG de xenogreffe tumorale après injection des CART-cells i.p. (> D28) ou i.v. (D19)



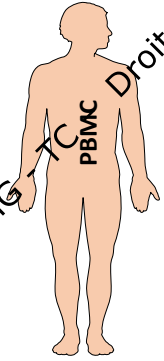
Fonctionnalité *in-vitro* des CART-cells IL-1RAP

Cellules primaires de patient LMC

(Cohort CAR-LMC N°clinicalTrials gov: NCT02842320)



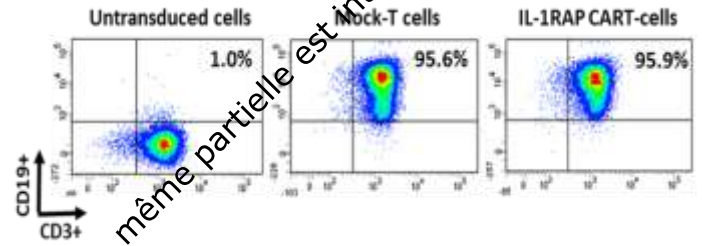
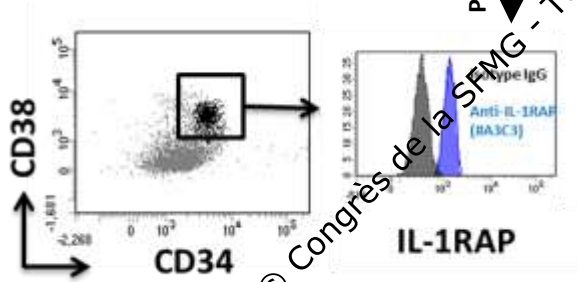
CML Patient



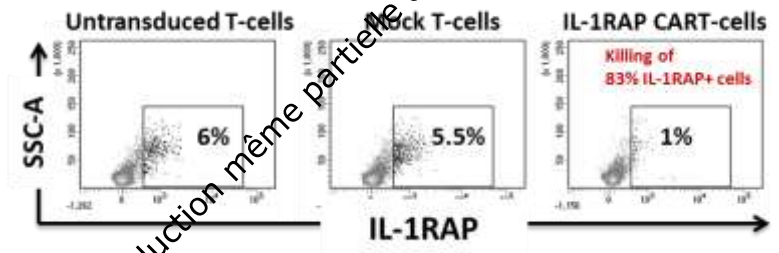
Transduction

Cytotoxicité contre les PBMC autologues

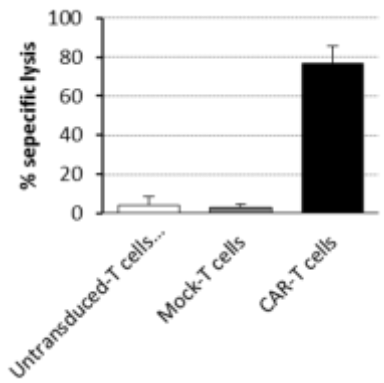
Phénotypage IL-1RAP



Le traitement iTK n'altère pas la transduction rétrovirale



Ratio E:T = 1:1, 24h co-culture



Elimination of 83% of autologous CD34+ / IL-1RAP+ cells

2018 © Congrès de la SFMG - Droits réservés - Toute reproduction même partielle est interdite.

Fonctionnalité *in-vitro* des CART-cells IL-1RAP

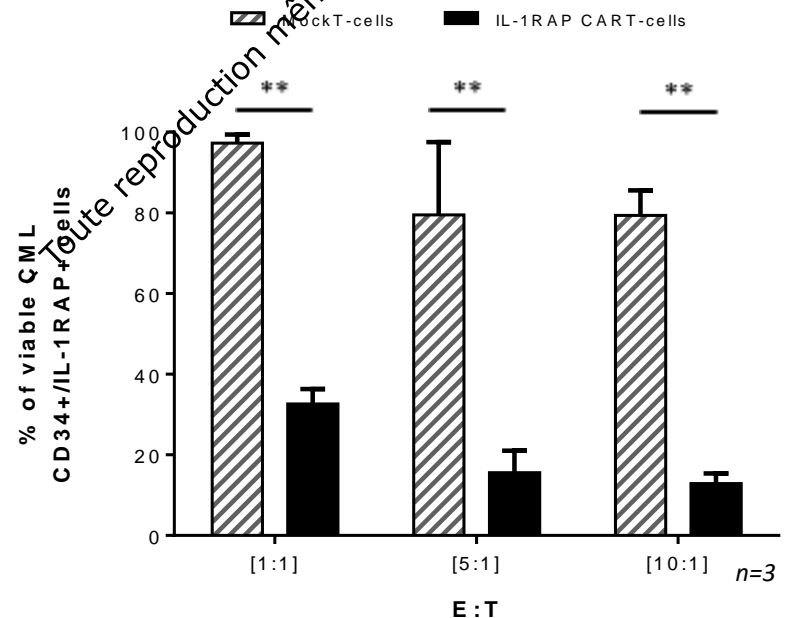
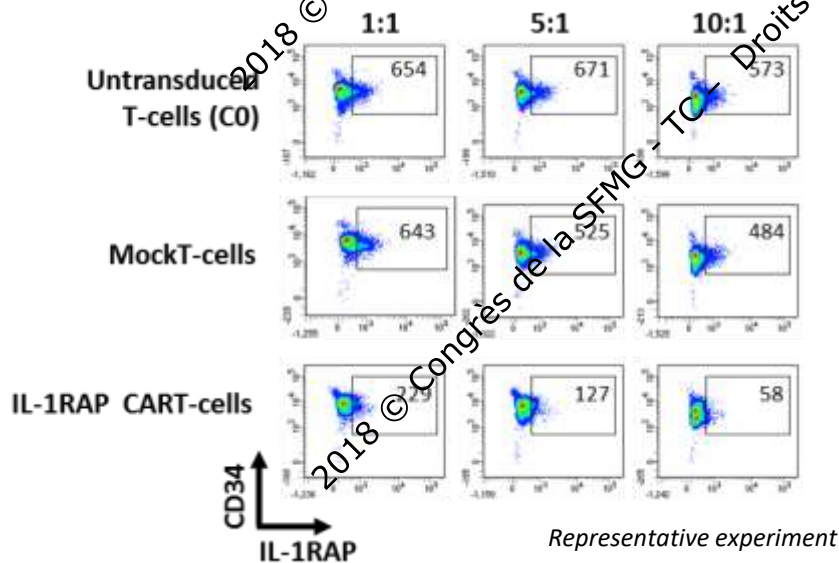
Greffons autologues de patients LMC

Greffons autologues de patients LMC cryoconservés (N2)

Patients	Sequence treatment; [Current TKi]	BCR/ABL (IS)	Time to last diagnosis (Months)	Cryopreserved CML PBSC autograft [year; N2 storage]	Transduction efficiency [%]	CD34+ / IL-1RAP+ killing efficiency
CML#1	IFN γ -IM-DAS; [NIL]	34%	258	1997; 21y	92%	67.38%
CML#2	IM; [Ø]	0,0011%	194	2002; 16y	80.9%	84.41%
CML#3	INF γ -IM,-NIL-DAS-PON-BOS; [IM]	0,67%	324	2000; 18y	83.1%	87.12%

Ø: treatment free; IFN γ : Interferon γ ; IM: Imatinib; DAS: Dasatinib; NIL: Nilotinib; PON: Ponatinib; BOS: Bosutinib

Autologous IL-1RAP CART-cells autologues



Conclusion

THE TAKE-HOME MESSAGE

- **IL-1RAP** est un antigène exprimé par les cellules leucémiques
- Production d'un **AcMo IL-RAP (#A3C3)**
- **Spécificité de l'AcMo** démontrée (Tissue Macro Array-TMA sur tissus sains)
- Développement d'un vecteur lentiviral CAR de **3^e génération [iCASP9* CAR_{CD28-4.1BB-CD3z}* ΔCD19]**
- **Pas de toxicité sur le système hématopoïétique** (partiellement sur les monocytes)
- **Efficacité** (in-vitro et in-vivo) sur les cellules leucémiques IL-1RAP+
- 1^{er} CART-cell (académique) ciblant IL-1RAP avec preuve de concept
- **Safety switch** iCASP9/AP1903 pour sécuriser
- Activité partielle sur les monocytes pourrait **limiter le Cytokine Release Syndrome (CRS)?**
- Immunothérapie anti-tumorale applicable à d'autres hémopathies (aigues)
- **Passage à l'échelle humaine** et évaluation de l'efficacité
- **Evaluation en clinique**

Team TIM-C

Pr Olivier ADOTEVI
Pr Francine GARNACHE-OTTOU
Dr Yann GODET
Sabaha BIICHE
Patricia LETONDAL
Dr Elodie BÖLE-RICHARD
Dr Fanny ANGELOT-DELETTRE
.....

Head of UMR1098

Pr Philippe SAAS

Bio-monitoring Platform

Caroline LAHEURTE
Eléonore GRAVELIN
Anne DUPERRIER

ATMP Platform – EFS B/FC

Dr Fabienne POUTHIER
Dr Jeanne GALAINE
Dr Stéphan ROUX

Dr Christophe FERRAND



Dr Marina DESCHAMPS



Dr Walid WARDA



Jean-Marie CERTOUX



Rim TRAD



Mathieu NETO-DA-ROCHA



Clémentine NICOD



CHU Besançon

Pr Eric DECONINCK
Dr Fabrice LAROSA
Dr Etienne DAGUINDAU
Pr Séverine VALMARY-DEGANO



CHU Dijon

Dr Denis CAILLOT

CH Belfort/Montbéliard

Dr Marie MOLDOVAN



CH Vesoul

Dr Cyril FAURE



UMR1098



2018 © Congrès de la SFMG - TC - Droits réservés

Toute reproduction même partielle est interdite.