



17-19 NOVEMBRE 2021

SFGM-TC
2021



Centre de
Congrès Prouvé
Nancy



NK et NK armées



Mélanie Gauthier, Véronique DECOT

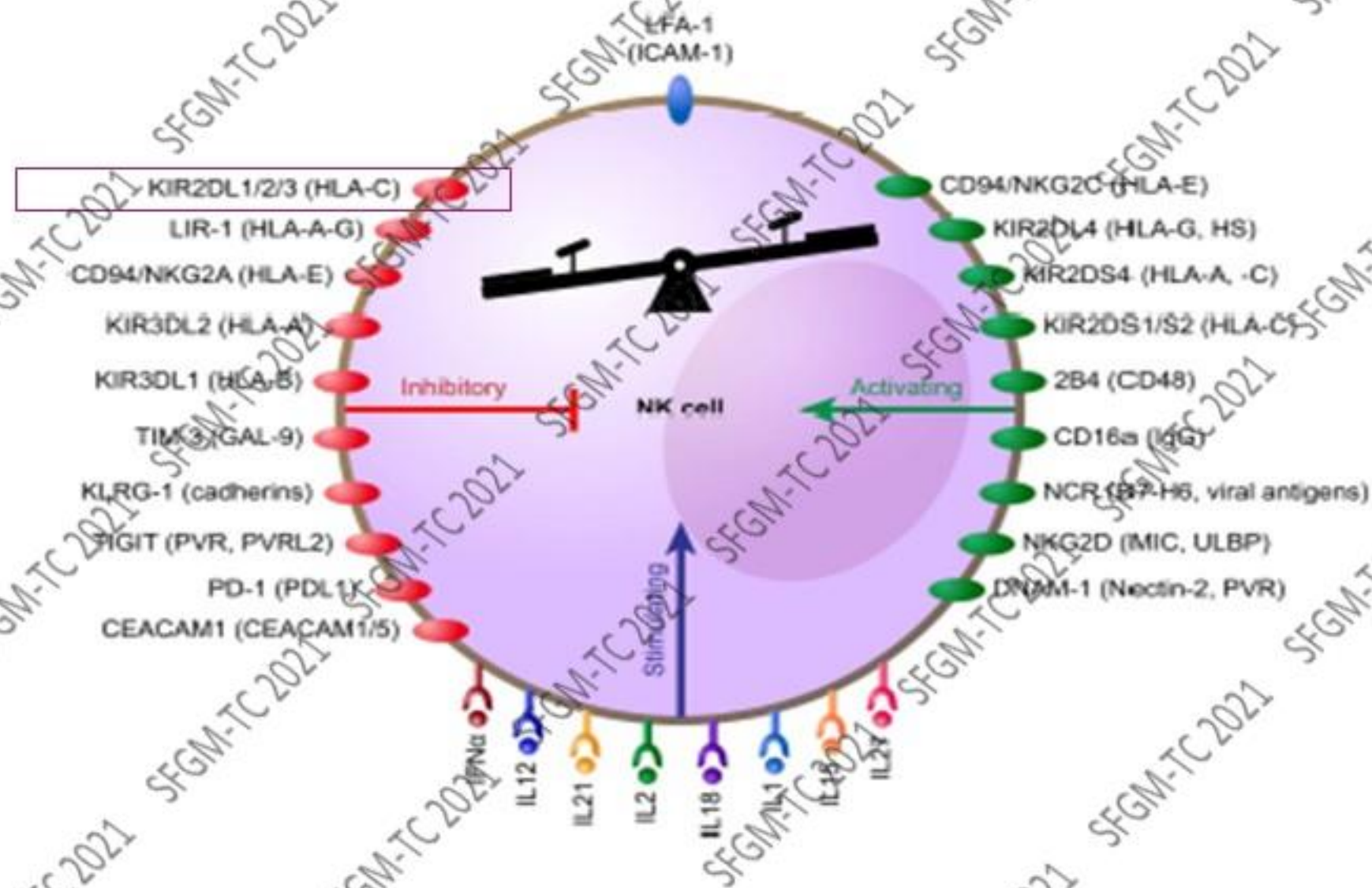
Unité de Thérapie Cellulaire et banque de Tissus, CHRU de Nancy

UMR CNRS UL 7365, IMoPa

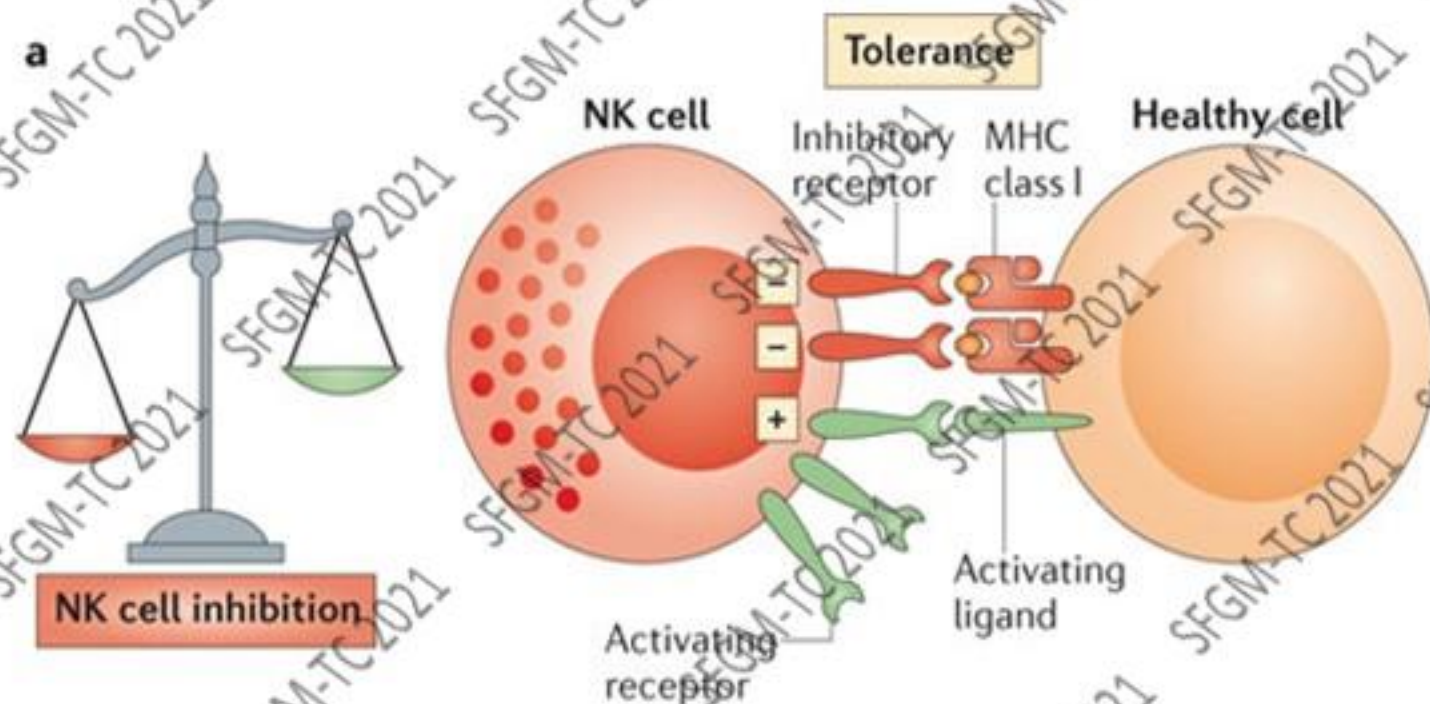
Les cellules Natural Killer (NK)

- Grands lymphocytes granuleux CD56+ CD3-
- 5 à 15% des lymphocytes circulants
- Première ligne de défense contre les infections virales et les cancers
- Diminution de leur nombre et fonctions :
 - Nombreux cancers (CCR..)
 - Syndrome de fatigue chronique, infections virales, maladies auto-immunes
- Fonctions (cytotoxicité, prolifération..) régulées par une balance entre signaux activateurs et inhibiteurs générés par l'engagement de différents récepteurs

La balance des récepteurs inhibiteurs et activateurs

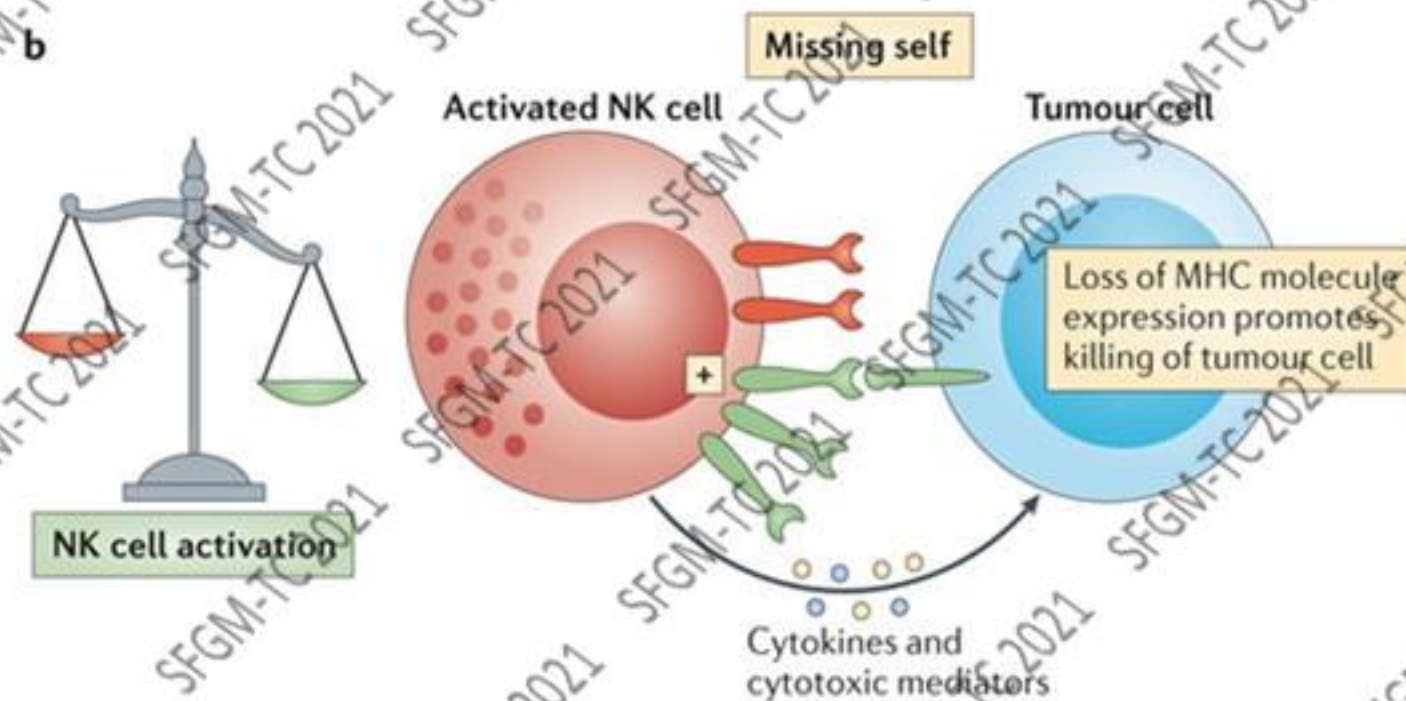


Fonctionnement des Cellules NK: la tolérance



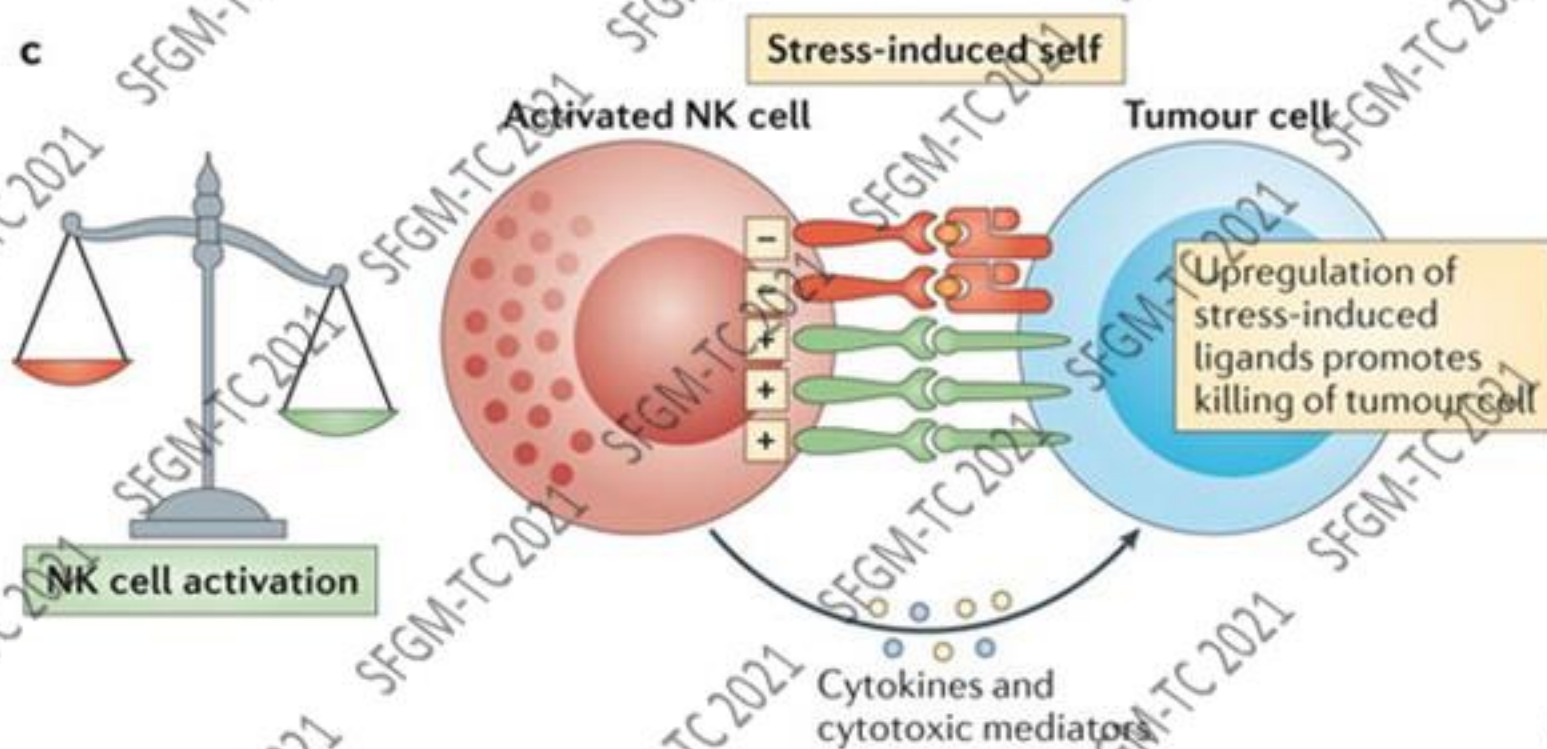
**cellules Natural killer (NK) tolérantes aux cellules de l'hôte
si le signal activateur < au signal inhibiteur**

Comment fonctionnent les Cellules NK: le soi manquant



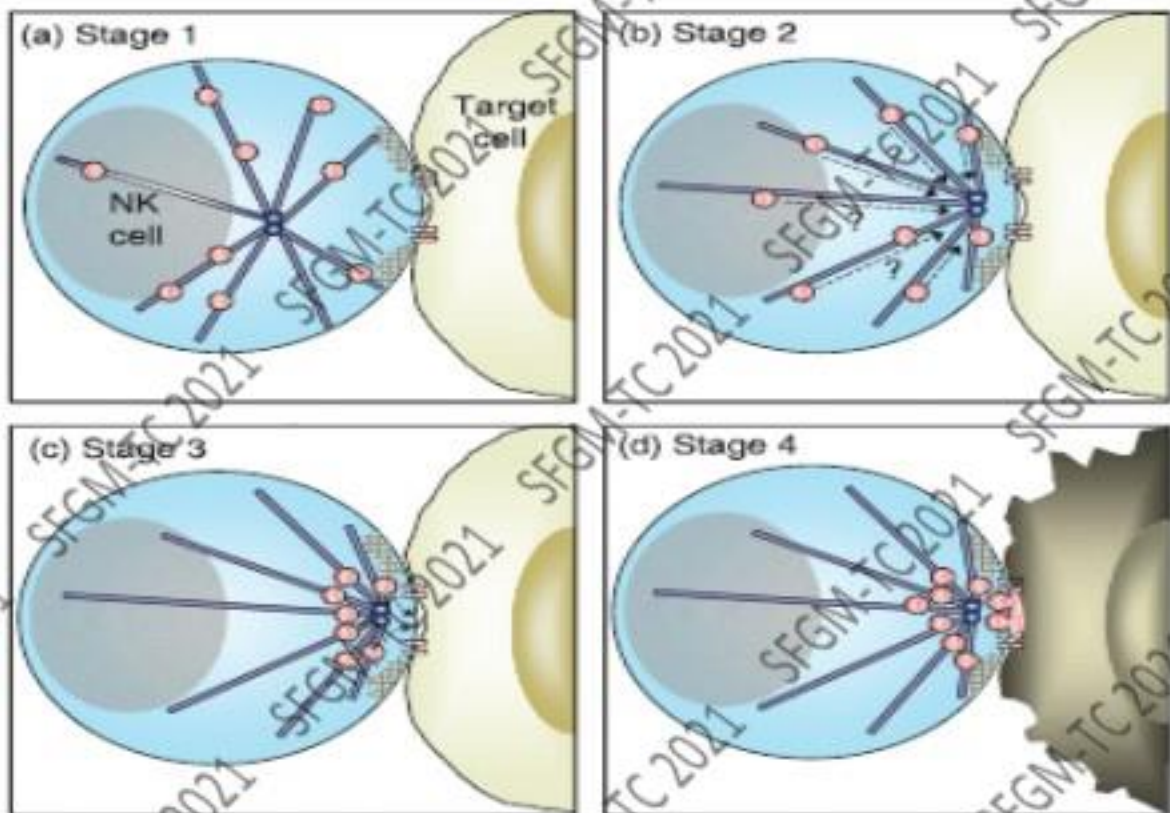
**Perte des molécules HLA de classe I par les cellules tumorales.
Plus de signal inhibiteur lié à l'engagement des molécules HLA de Classe I.**

Comment fonctionnent les Cellules NK: « soi induit par le stress »



**Activation possible des cellules NK par des cellules “stressées”,
Surexpression des ligands des récepteurs activateurs,
Signal activateur supérieur au signal inhibiteur.**

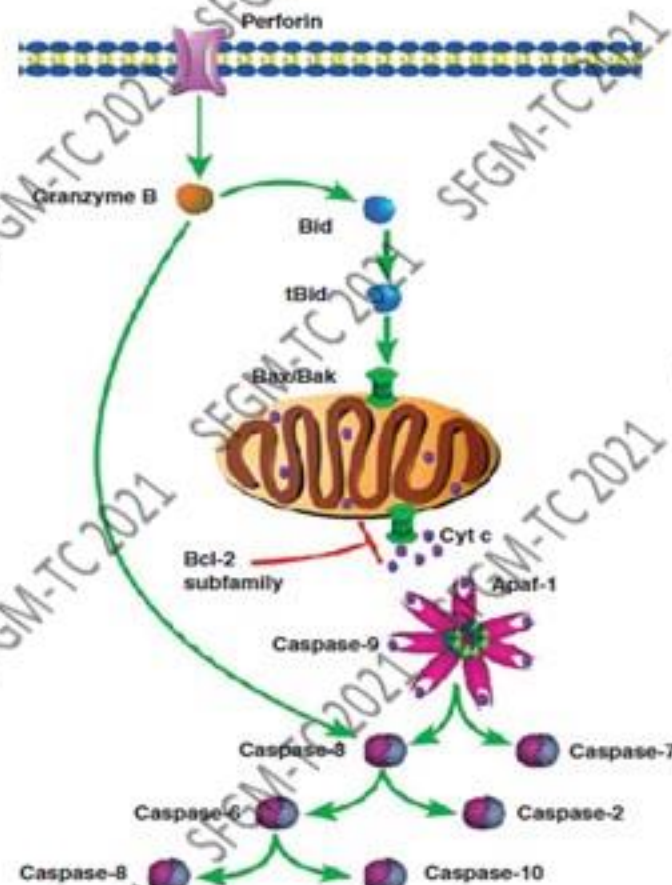
Mécanisme de cytotoxicité : le baiser de la mort



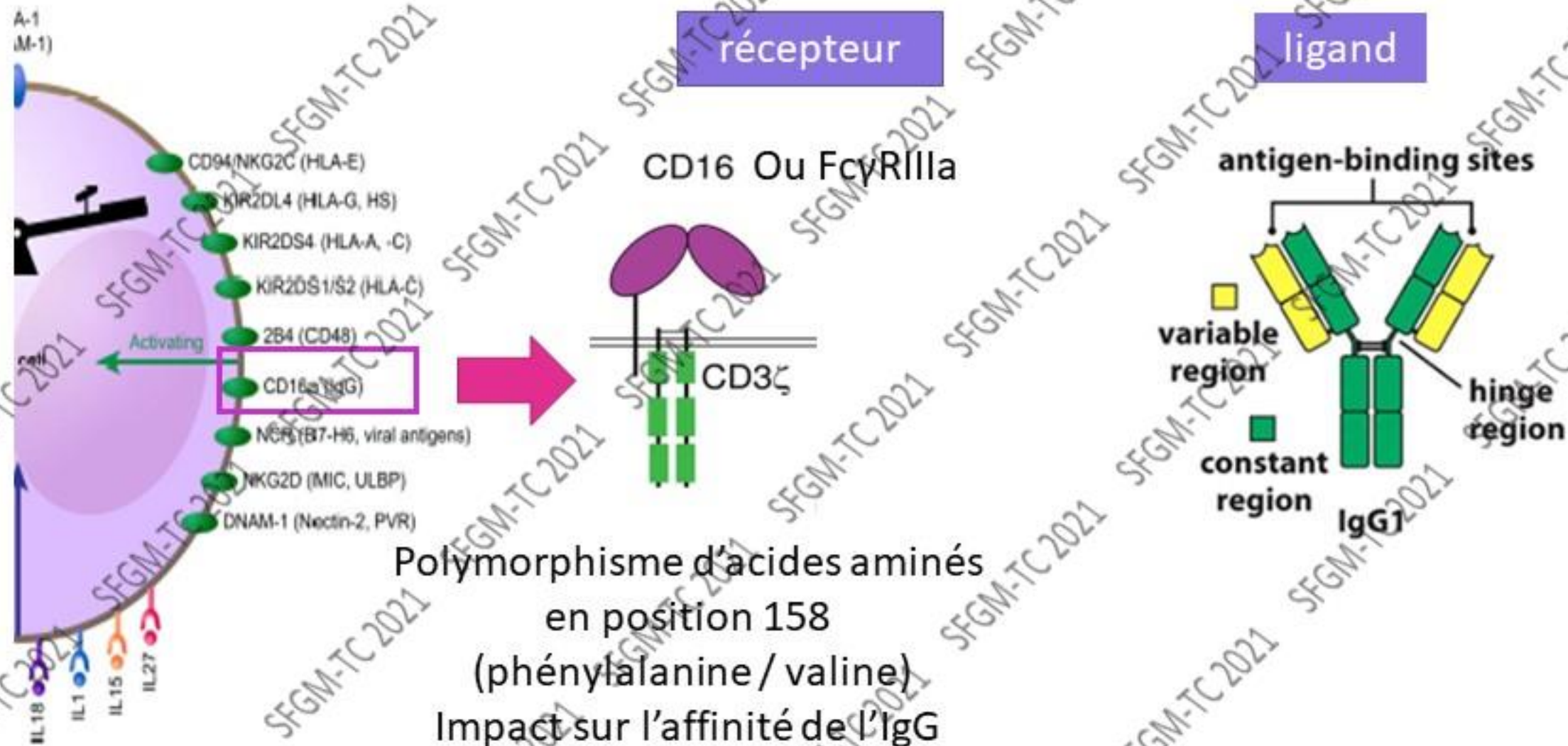
Secretory lysosome ●
MTOC ■
Microtubule —

Actin cytoskeleton ●
Adhesion proteins —

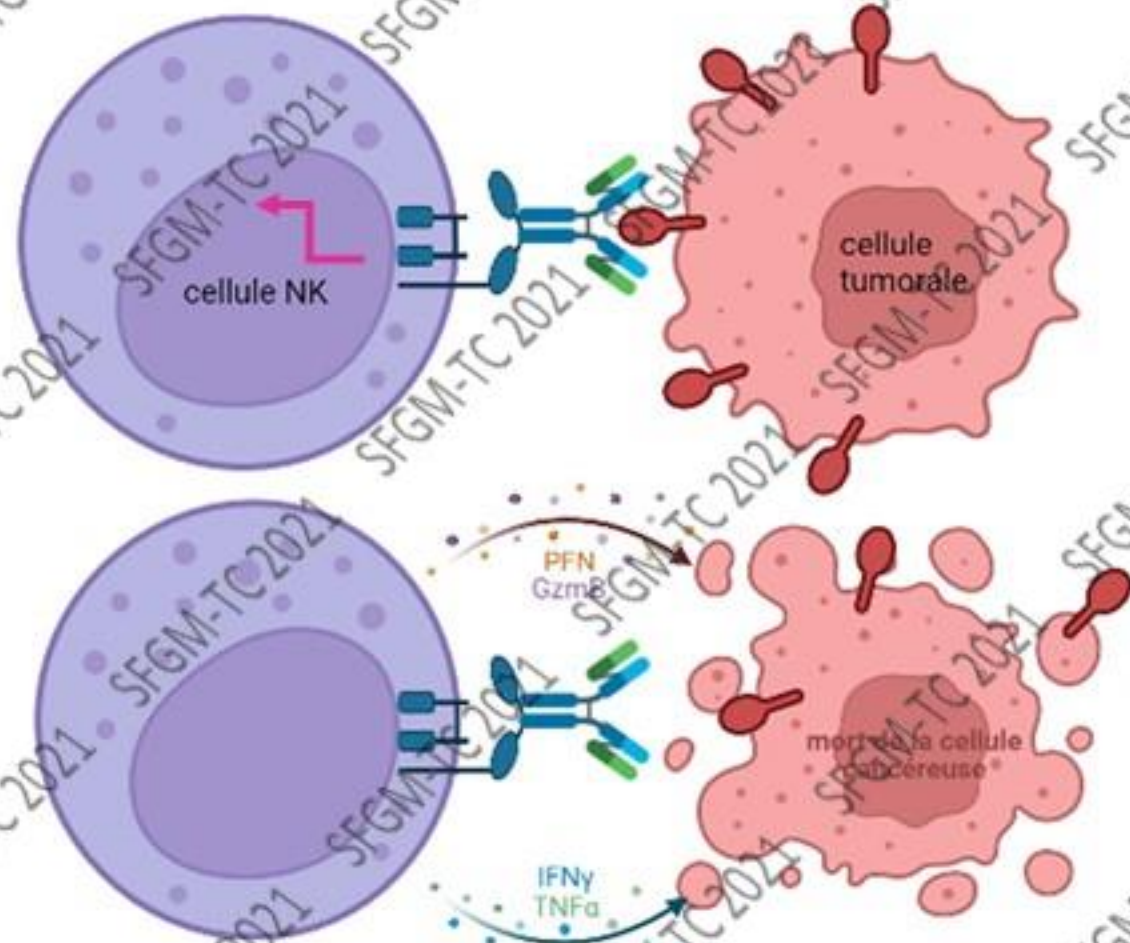
système
Perforine / granzyme



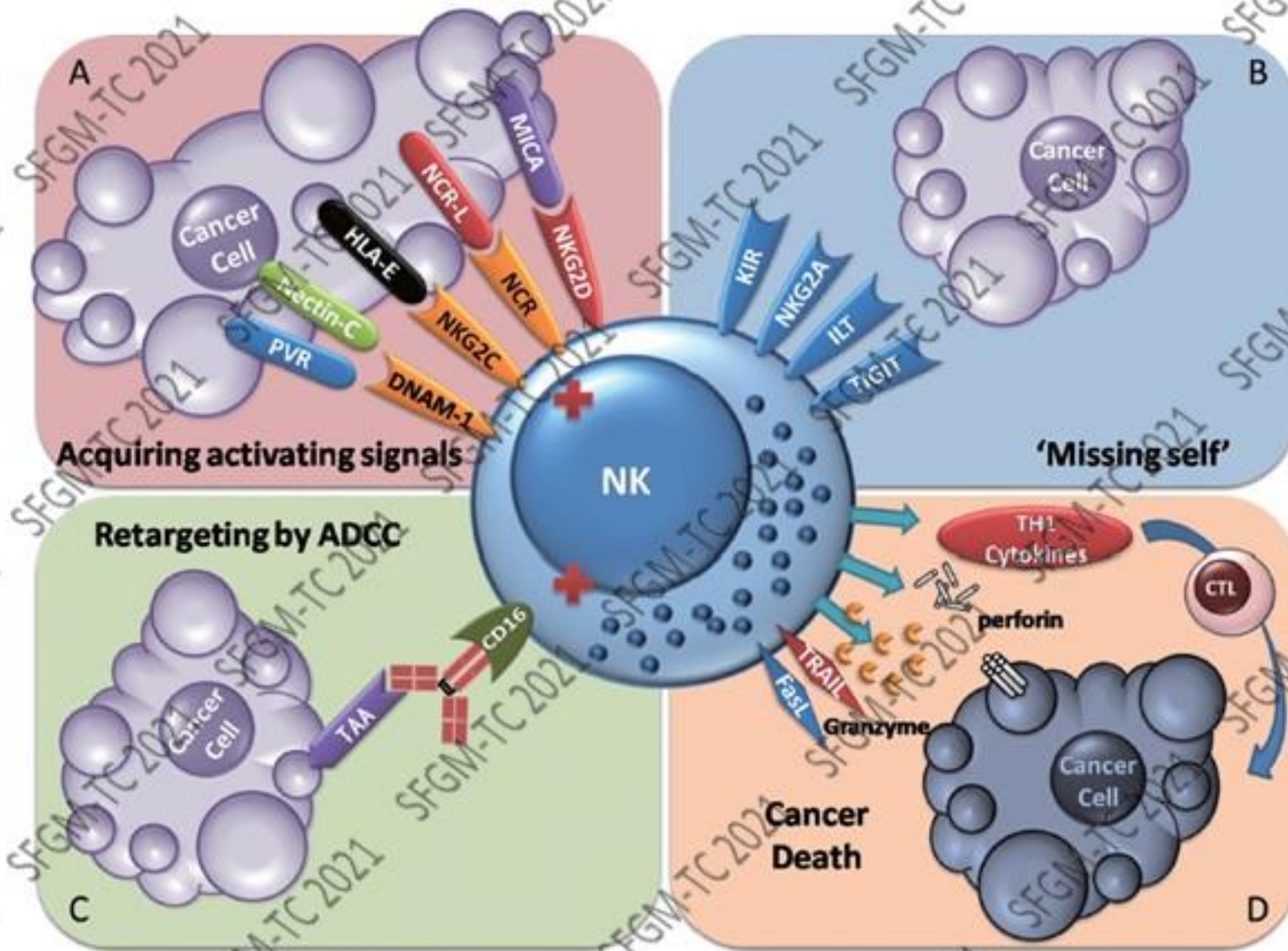
Les acteurs du mécanisme d'ADCC



mecanisme d'ADCC

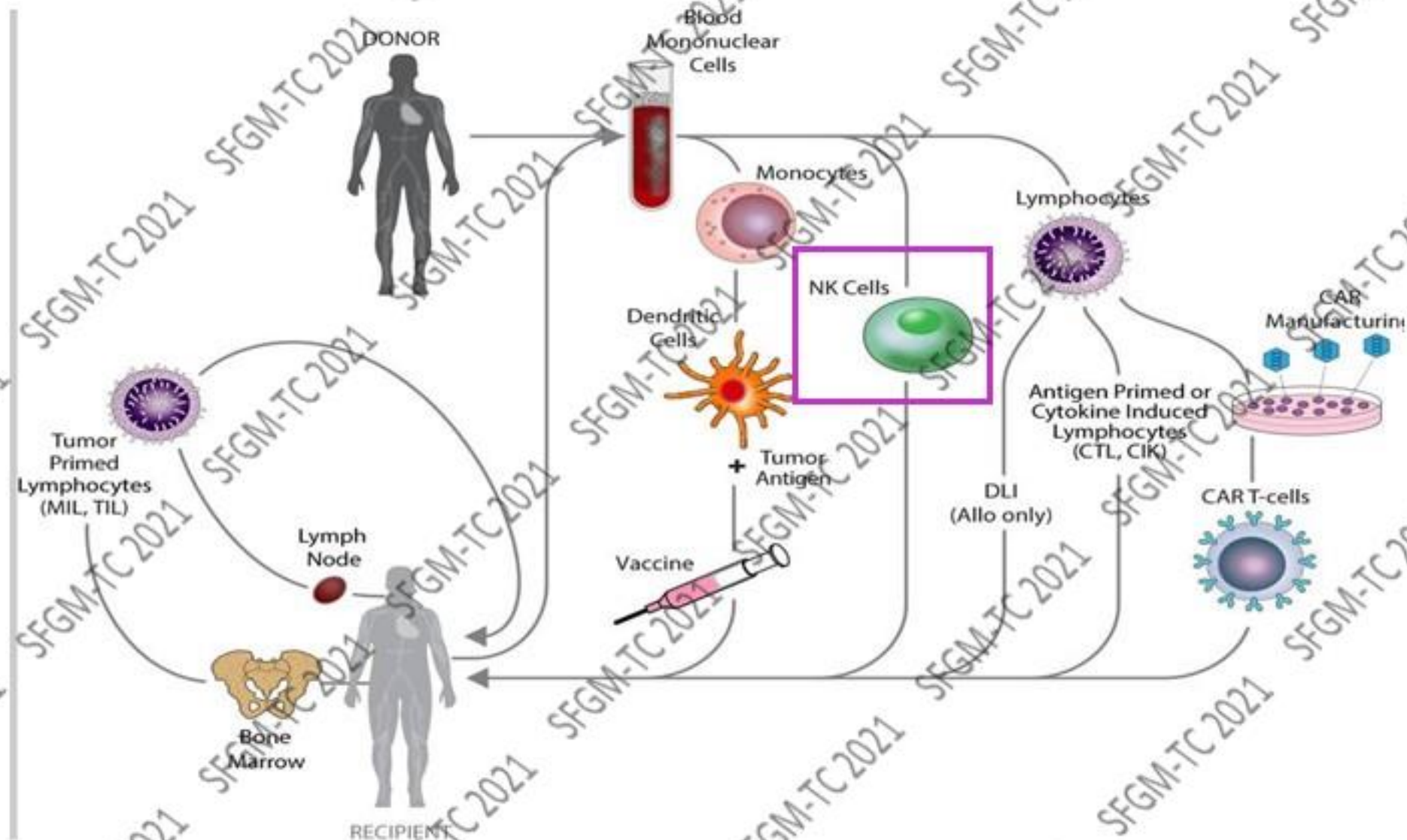


En résumé : les mécanismes d'immunosurveillance

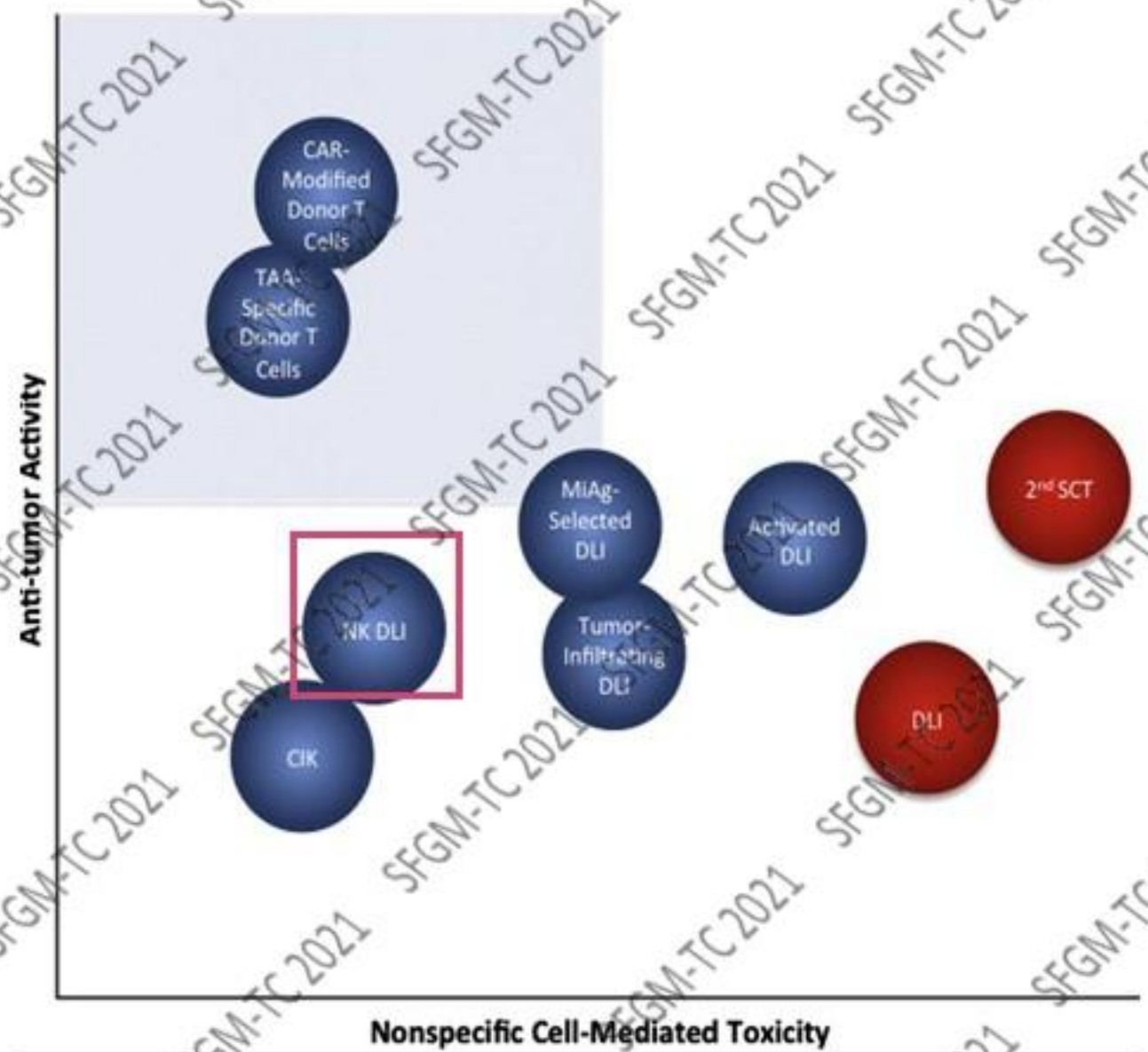


Place des cellules NK
parmi l'arsenal des
immunothérapies

Place des cellules NK parmi les immunothérapies à l'étude



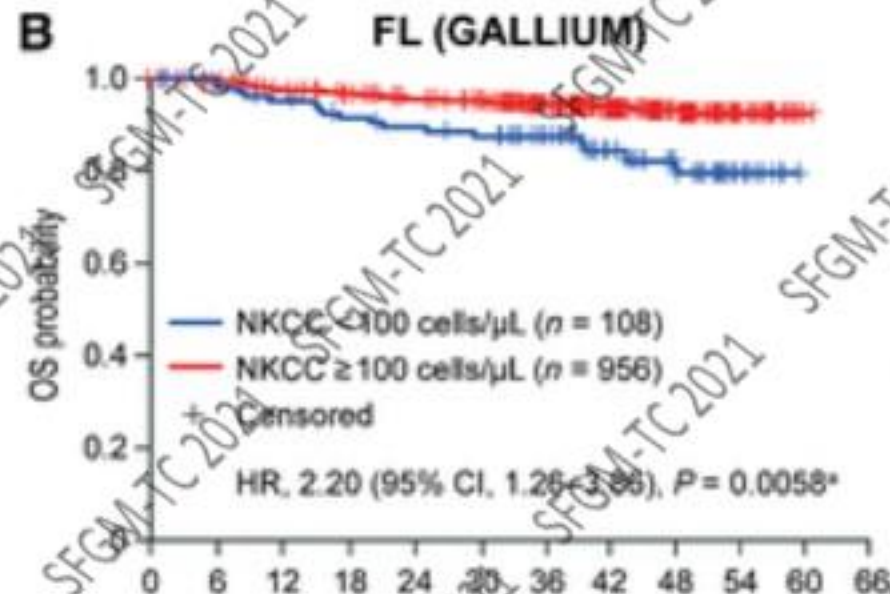
Relation entre l'activité anti tumorale et la toxicité



influence des cellules NK sur l'efficacité thérapeutique des anticorps monoclonaux (1)

Le taux de cellules NK influence la réponse à l'Ac monoclonal

- Essai clinique phase III
- Lymphome folliculaire
- RTX vs OBT (+chimioT)



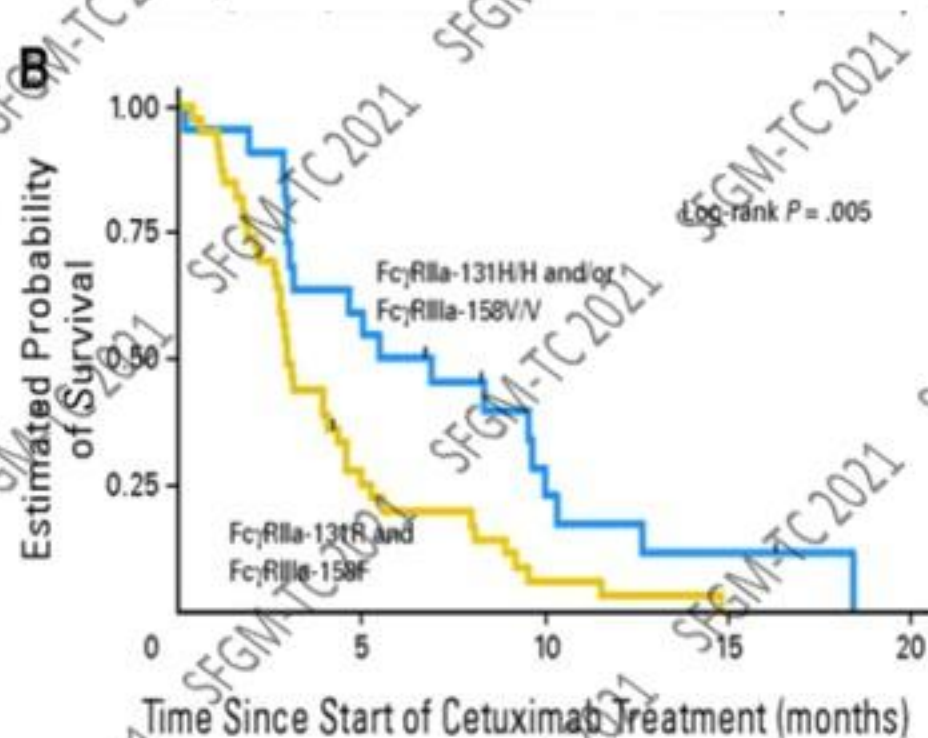
Klanova M. *et al*, *Clin Can Res* 2019

Meilleure survie globale
Si tx NK > 100 / μ l

influence des cellules NK sur l'efficacité thérapeutique des anticorps monoclonaux (2)

- Le polymorphisme du CD16 influence la réponse à l'Ac
- Etude retrospective sur 69 Patients
- CCR metastatique
- Cetuximab (aEGFR) + irinotecan

Meilleure probabilité de survie pour les patients homozygotes 158V/V



Bibeau F. *et al*, *JCO*, 2009

Pour améliorer la réponse aux Ac monoclonaux:

Combinaison avec une immunothérapie basée sur les cellules NK

**Sélection immunomagnétique
à partir d'une source cellulaire**

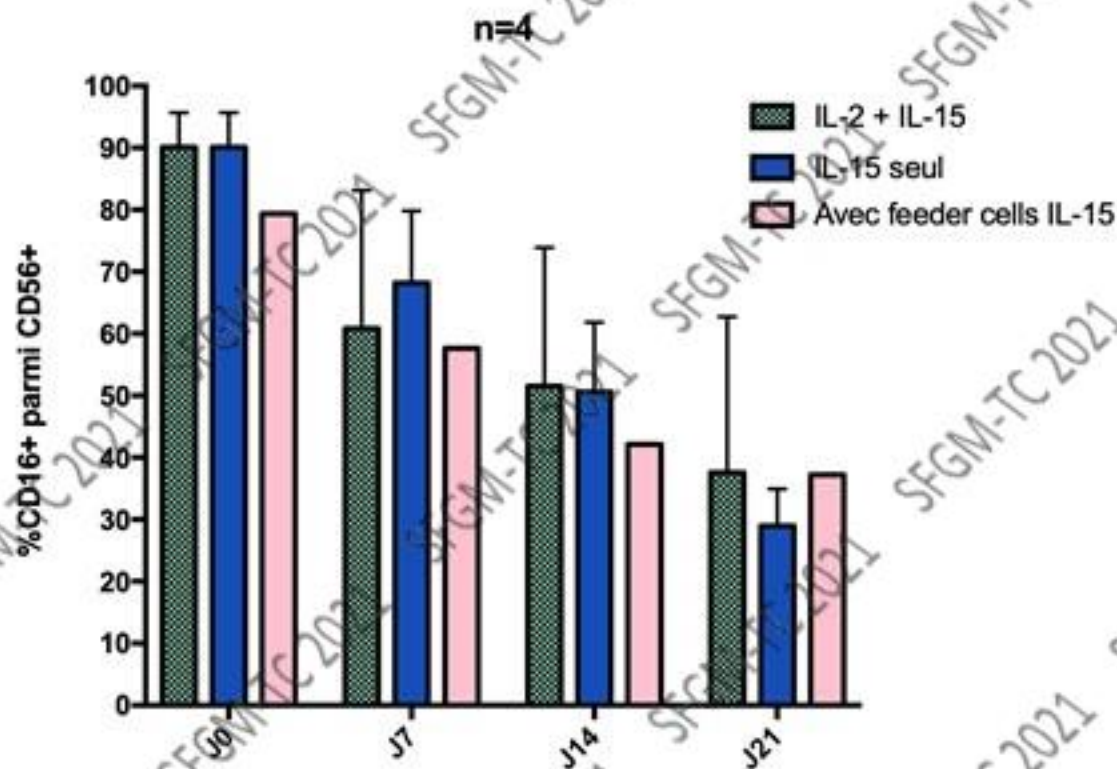


• **expansion**

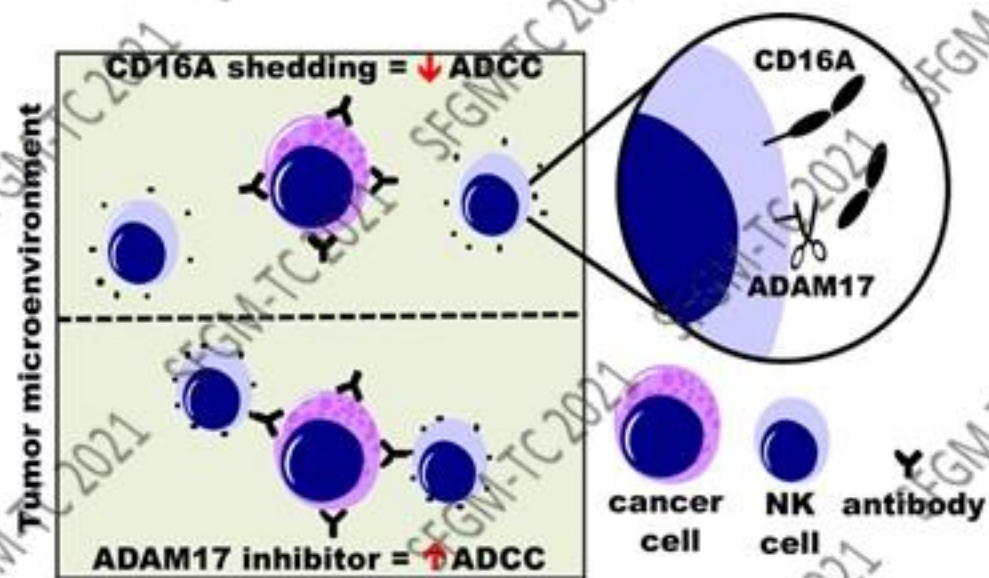
?

• **Maintien du CD16 au cours de l'expansion**

Le CD16 est-il conservé au cours de l'expansion?



Chute de l'expression du CD16
au fil de l'expansion



Hypothèse :

limiter le clivage du CD16
par inhibition de la metallo-protéinase
ADAM17 (Inhibiteur TAPI-1)

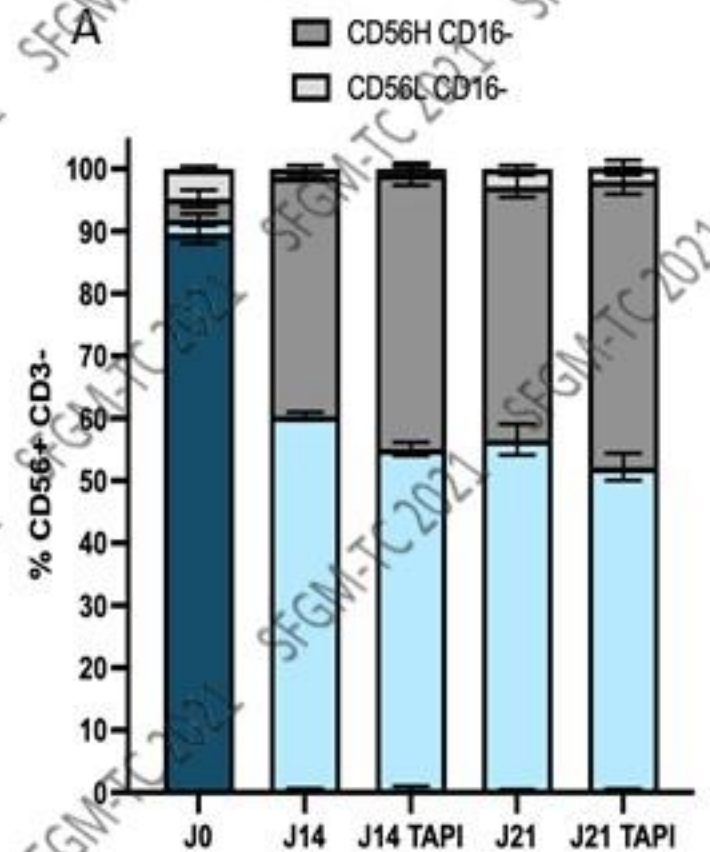
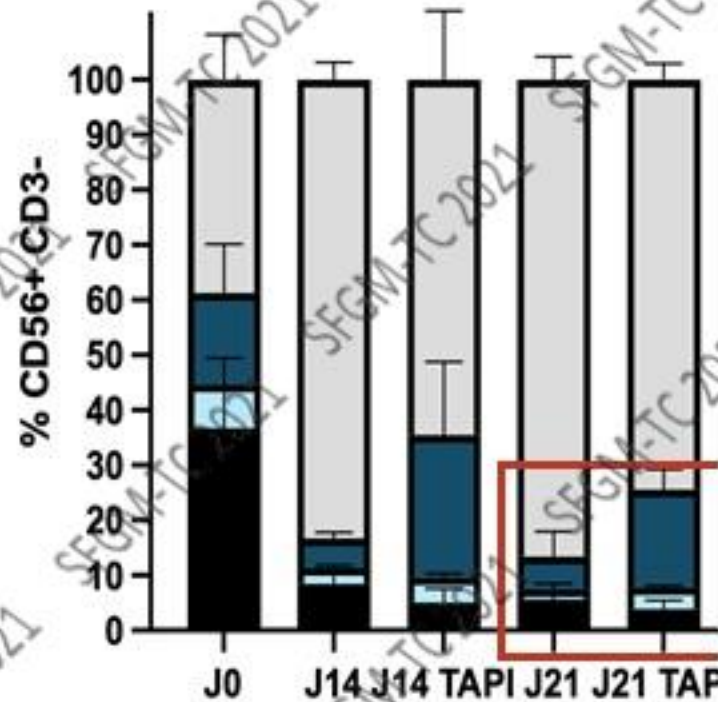
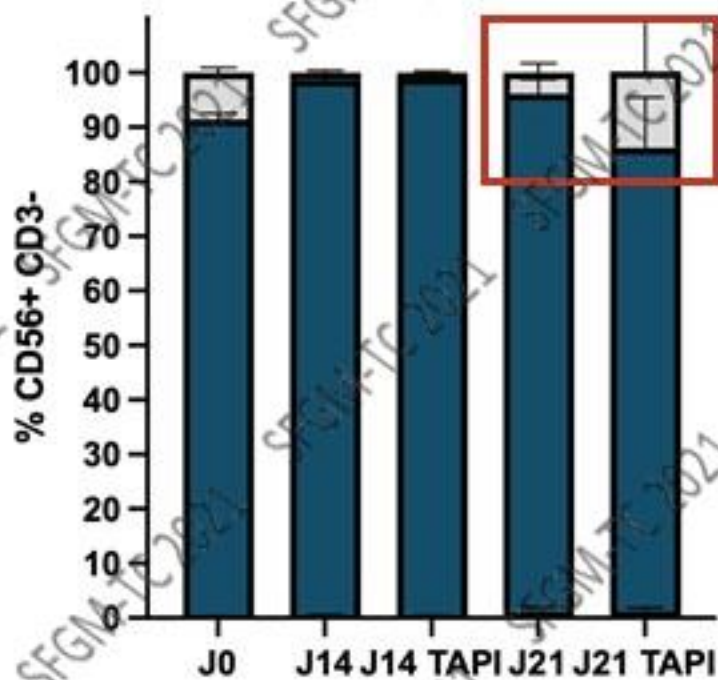
L'inhibiteur TAPI a-t-il un impact sur le phénotype des cellules NK ?

TAPI 10 μ M J0
1 μ M >J7

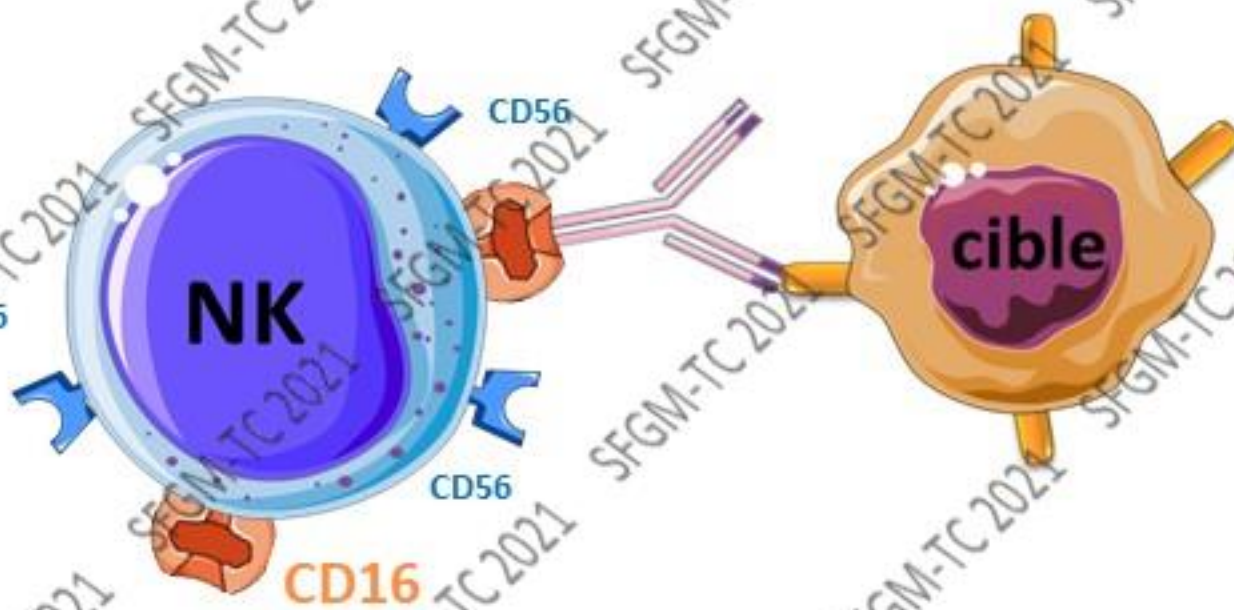
- TIM3- PD1+
- TIM3+ PD1+
- TIM3+ PD1-
- TIM3- PD1-

- CD62L- CD57+
- CD62L+ CD57+
- CD62L+ CD57-
- CD62L- CD57-

- CD56L CD16+
- CD56H CD16+
- CD56H CD16-
- CD56L CD16-



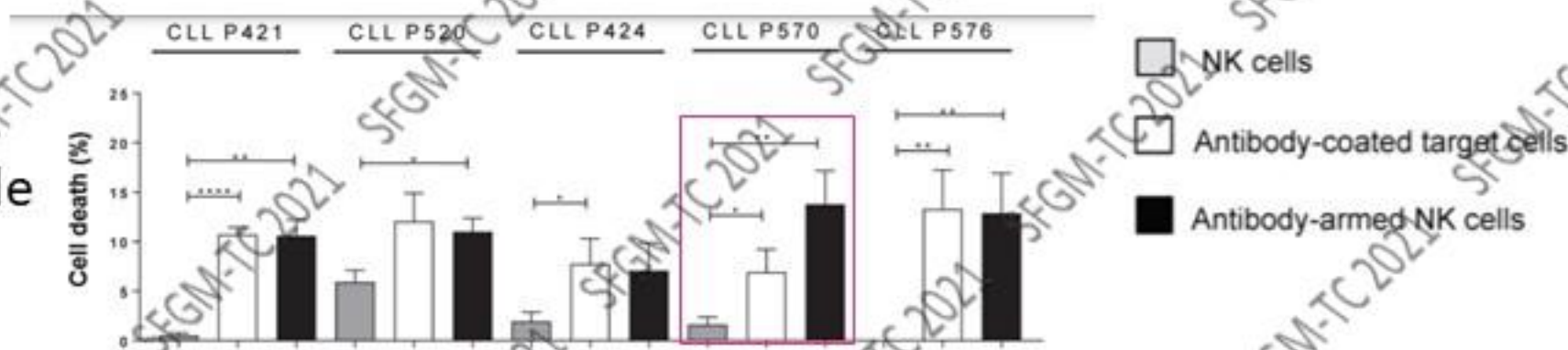
Le CD16 peut-il être utilisé pour armer les cellules NK?



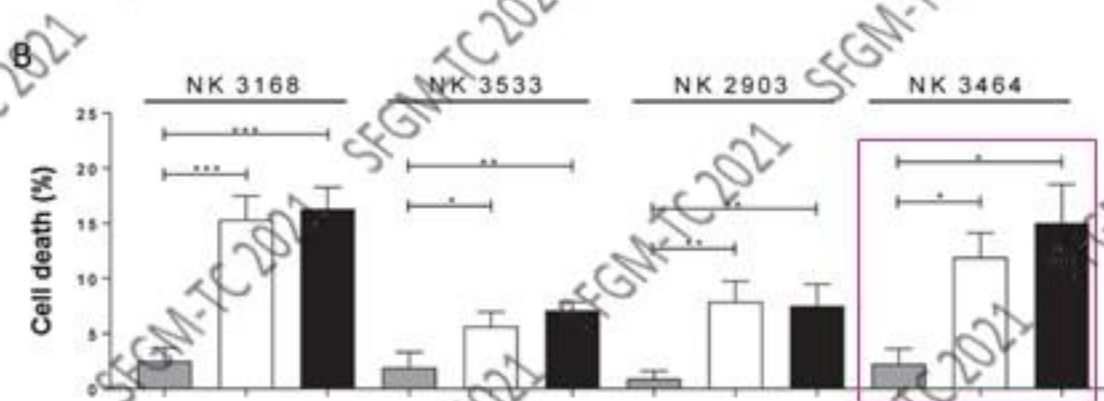
Concept de l'armement dans la littérature

- Premiers résultats publiés par Sanchez-Martinez *et al*, *theranostic* 2018

Echantillons de patients LLC



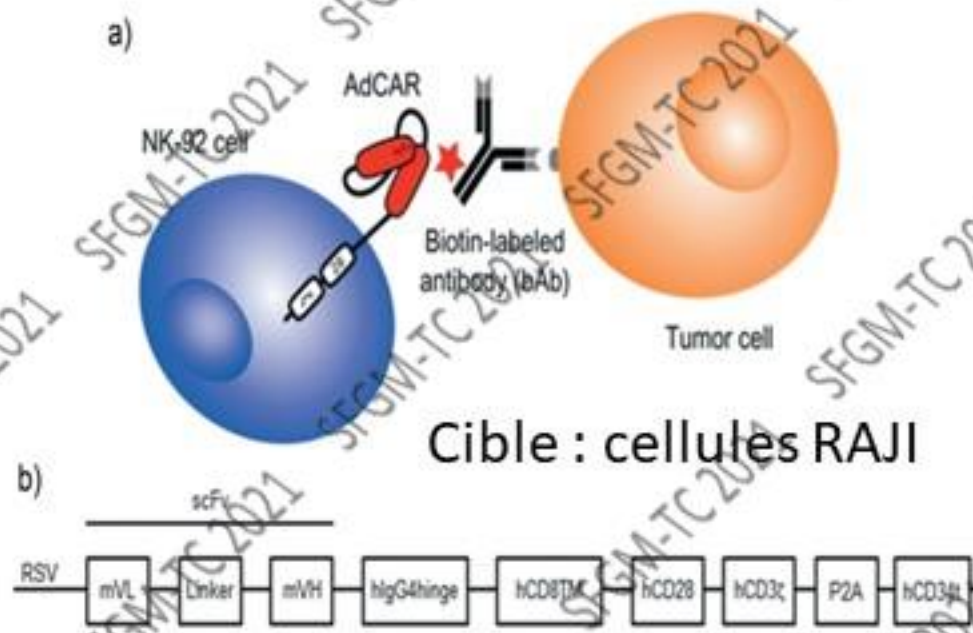
NK primaires



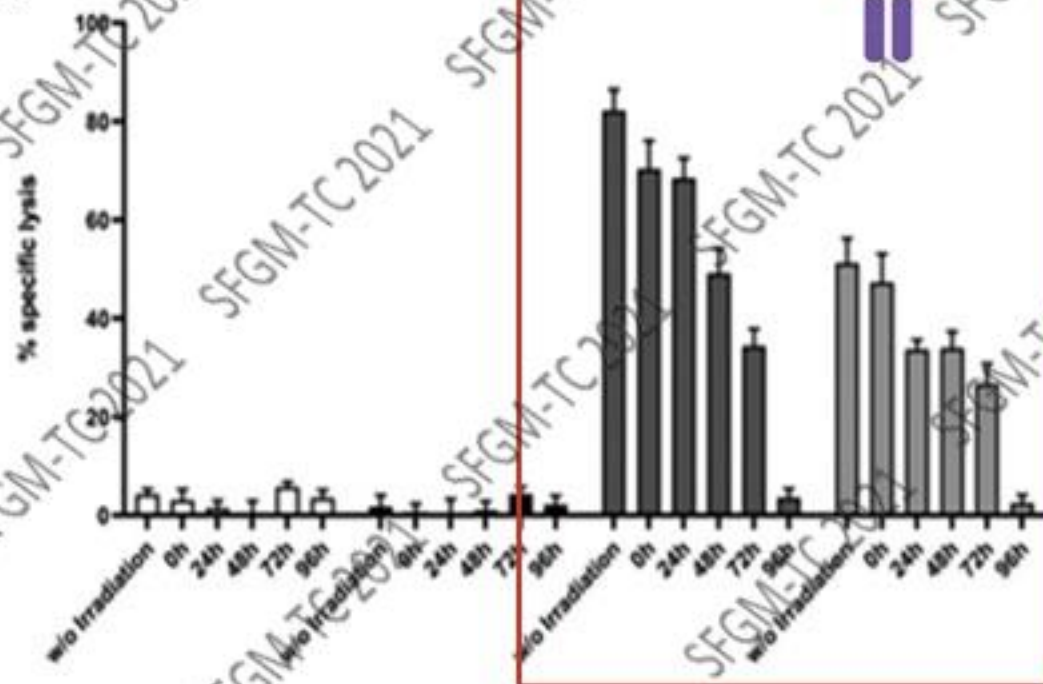
NK armées > NK seules

Le concept de l'armement évolue..

- Génération de cellules NK transduites pour exprimer un adaptateur CAR capable de fixer des Anticorps biotinylés



Cible : cellules RAJI



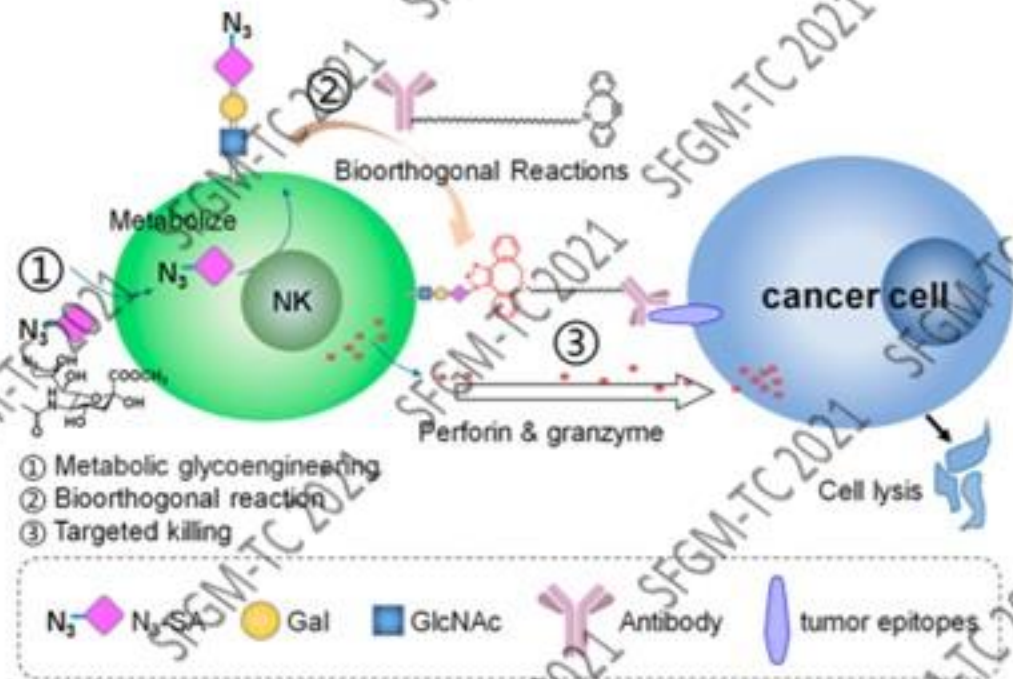
Grote S. et al, *Oncoimmunology* 2020

- NK-92
- AdCAR NK-92 w/o bAb
- AdCAR NK-92 + bCD19
- AdCAR NK-92 + bCD20

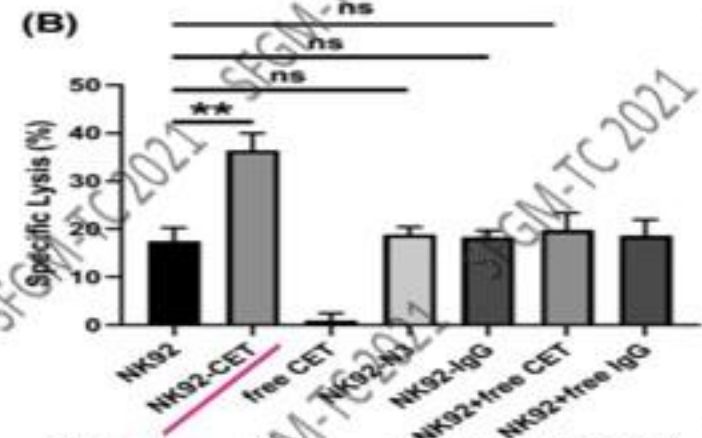
aCD19 a CD20

Le concept de l'armement évolue..

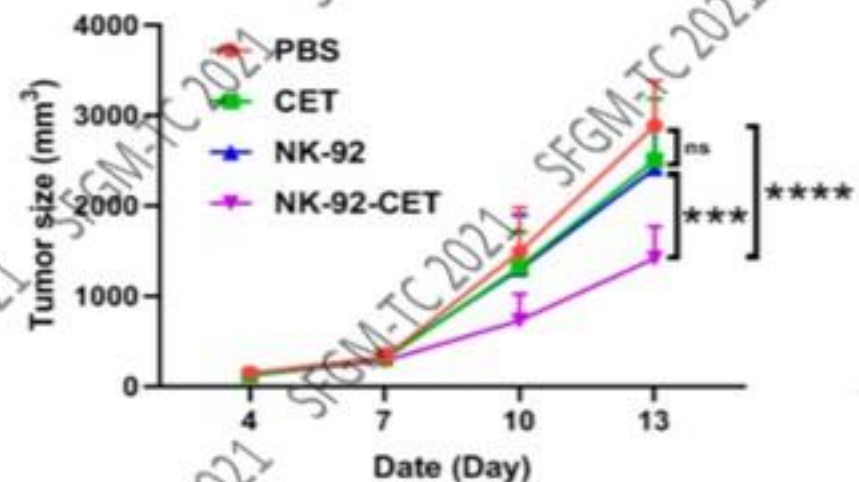
- Génération de cellules NK modifiées biochimiquement pour intégrer un groupement azoté reconnaissant un linker couplé à un anticorps (cetuximab (CET))



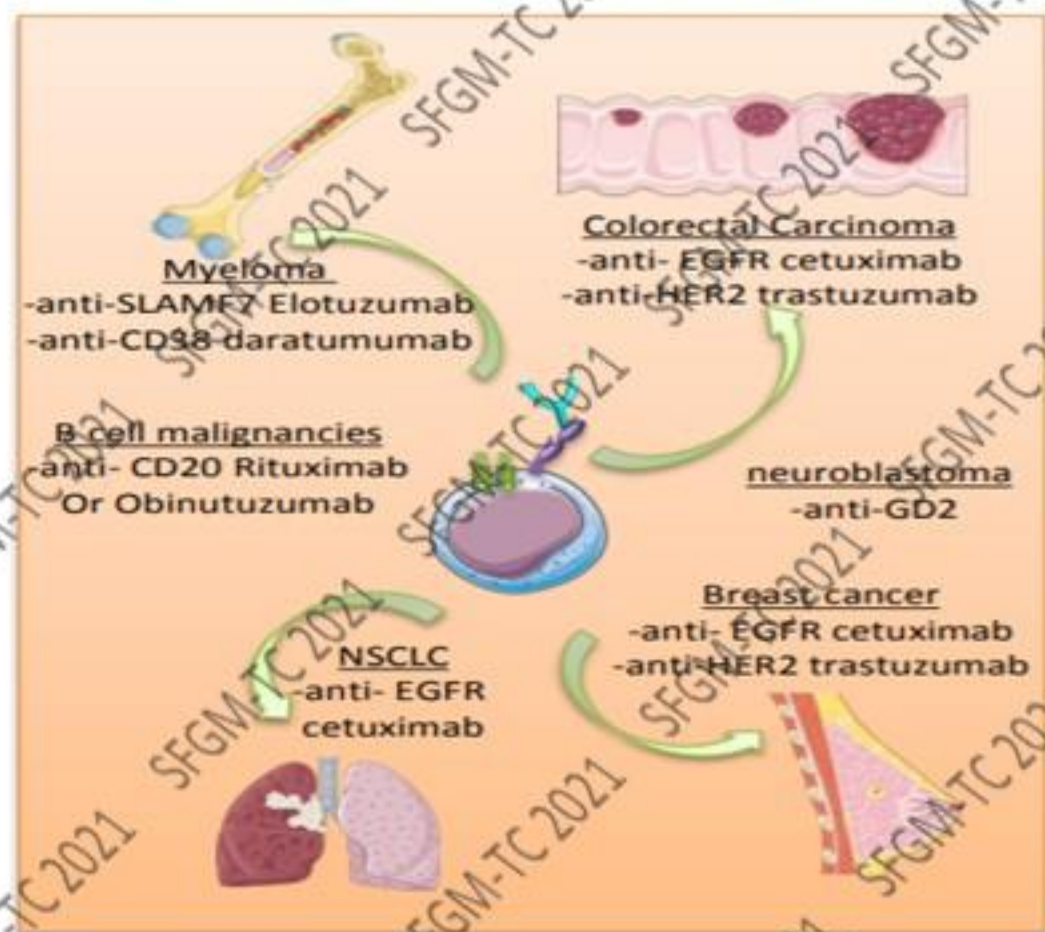
Wang X. *et al*, ACS chemical biology 2021



Cible : cellules SW480 (CCR)



Identification de l'antigène cible et de l'anticorps monoclonal d'intérêt



• Objectif:

- Application de ce concept à notre pathologie d'intérêt, le medulloblastome

Medulloblastome (Mb):

1ère cause de tumeur pédiatrique cérébrale

Fort potentiel de dissémination métastatique

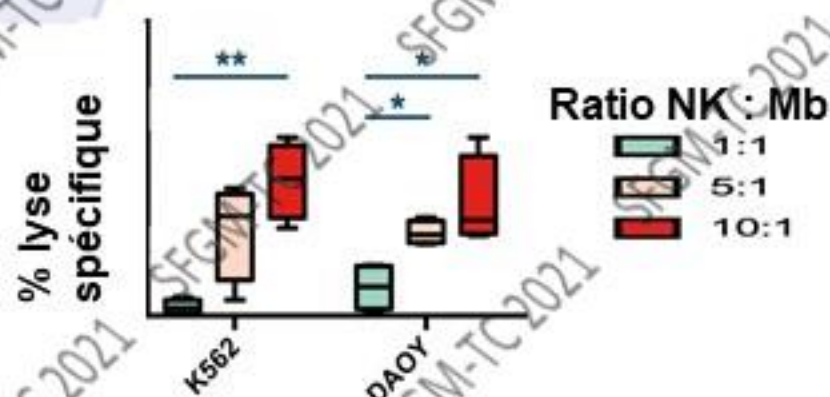
Caractéristiques histologiques et moléculaires hétérogènes

Prise en charge thérapeutique (chirurgie, RT...): séquelles +++

3 Lignées modèles disponibles (D283, D341, DAOY)

Activité antitumorale décrite contre le médulloblastome

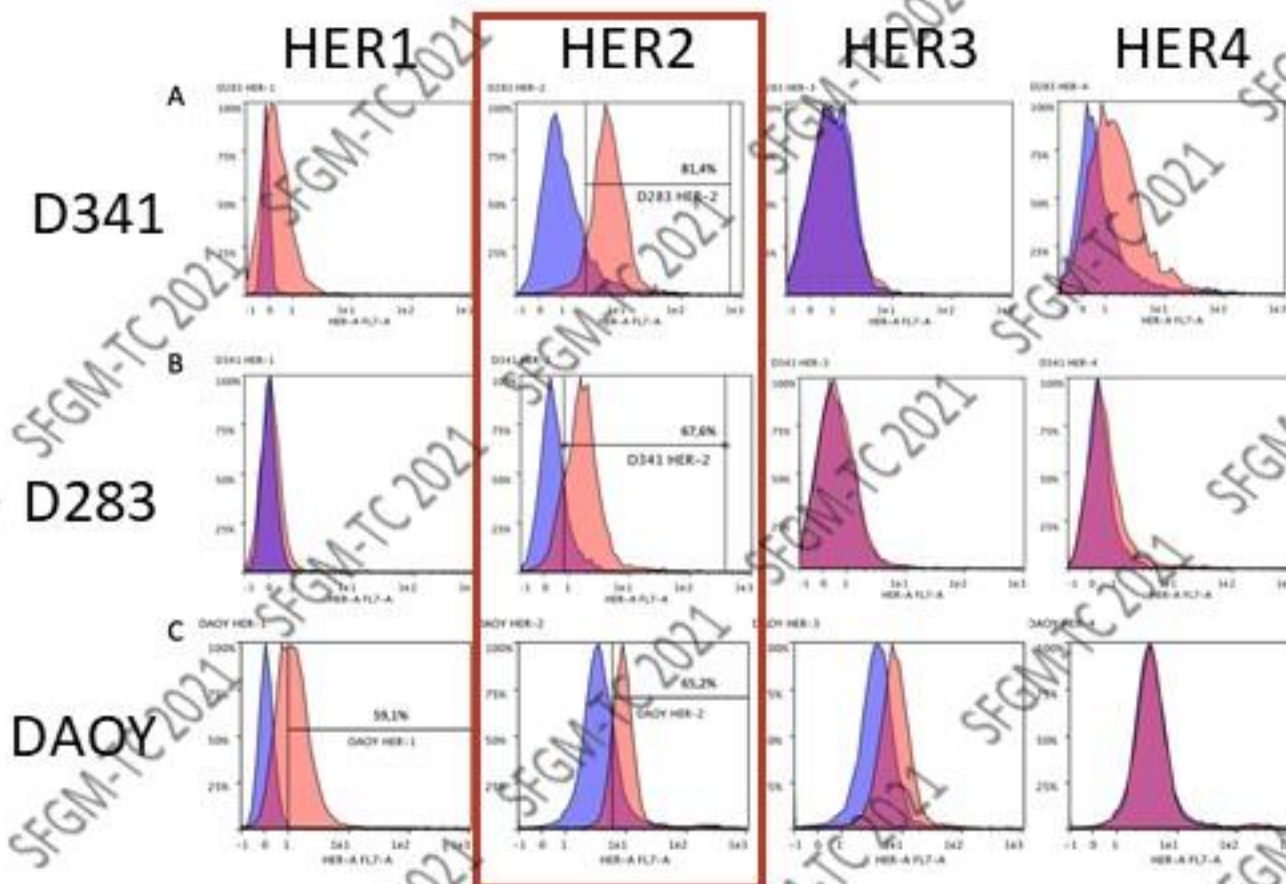
Utilisable comme thérapie pour prévenir le risque de rechute et éliminer les cellules tumorales résiduelles post-chirurgie (bonne tolérance, spécificité)



Intérêt de l'armement pour booster la cytotoxicité?

Identification de l'antigène cible et de l'anticorps monoclonal d'intérêt

- ▶ Analyse de l'expression des 4 récepteurs de l'EGF HER 1-4

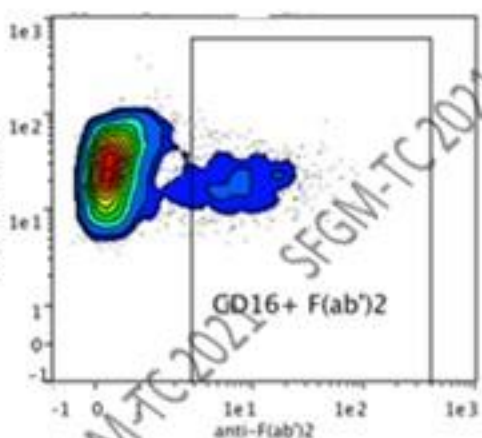


Expression modérée mais systématique de HER2 sur les 3 lignées de Mb sur modèle 2D

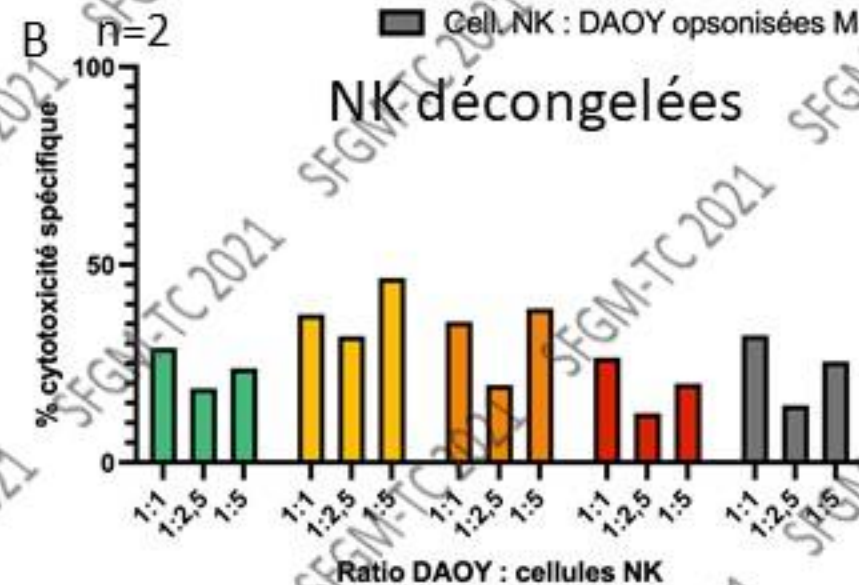
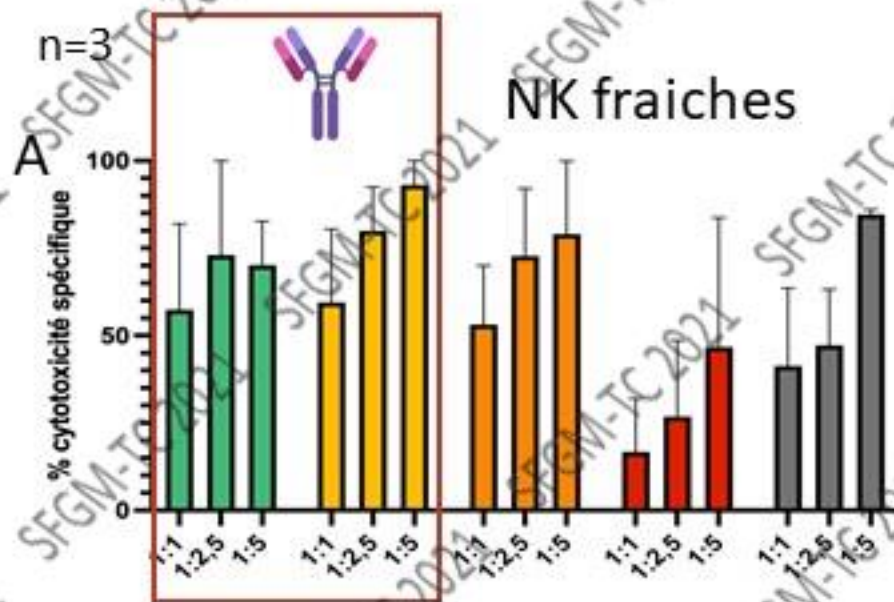
Anticorps anti-HER2
Trastuzumab



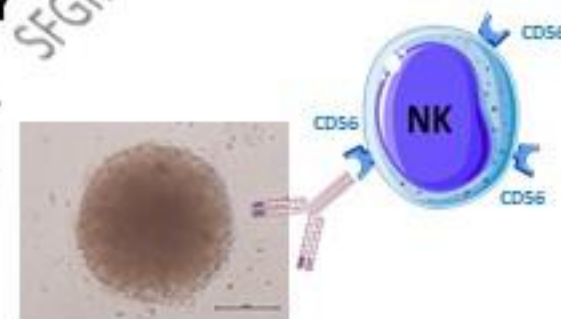
Cytotoxicité des cellules NK armées avec le Trastuzumab contre les cellules DAOY



Detection du trastuzumab sur les NK



- Armement optimal des cellules NK à 0,2 mg/ml de Trastuzumab
- Augmentation 5-15% de la lyse spécifique des cellules DAOY
- Augmentation de la cytotoxicité après décongélation
- Résultat en cours de confirmation sur un modèle sphéroïde (CF poster 47)



Evaluation du bénéfice potentiel de l'armement *in vivo*

Collaboration
C. Boura,
J. Pierson
(CRAN)

Modèle murin
hétérotopique

Lignée DAOY
Souris NUDE (Foxn1)

Suivi J40 ou > 1000mm³

3 groupes de 5 animaux:

- Véhicule / Ctrl
- NK+IL-15
- NK armées+ IL-15

NK Armées

Inj. périphérique
1x10⁶
cellules NK

2x/semaine

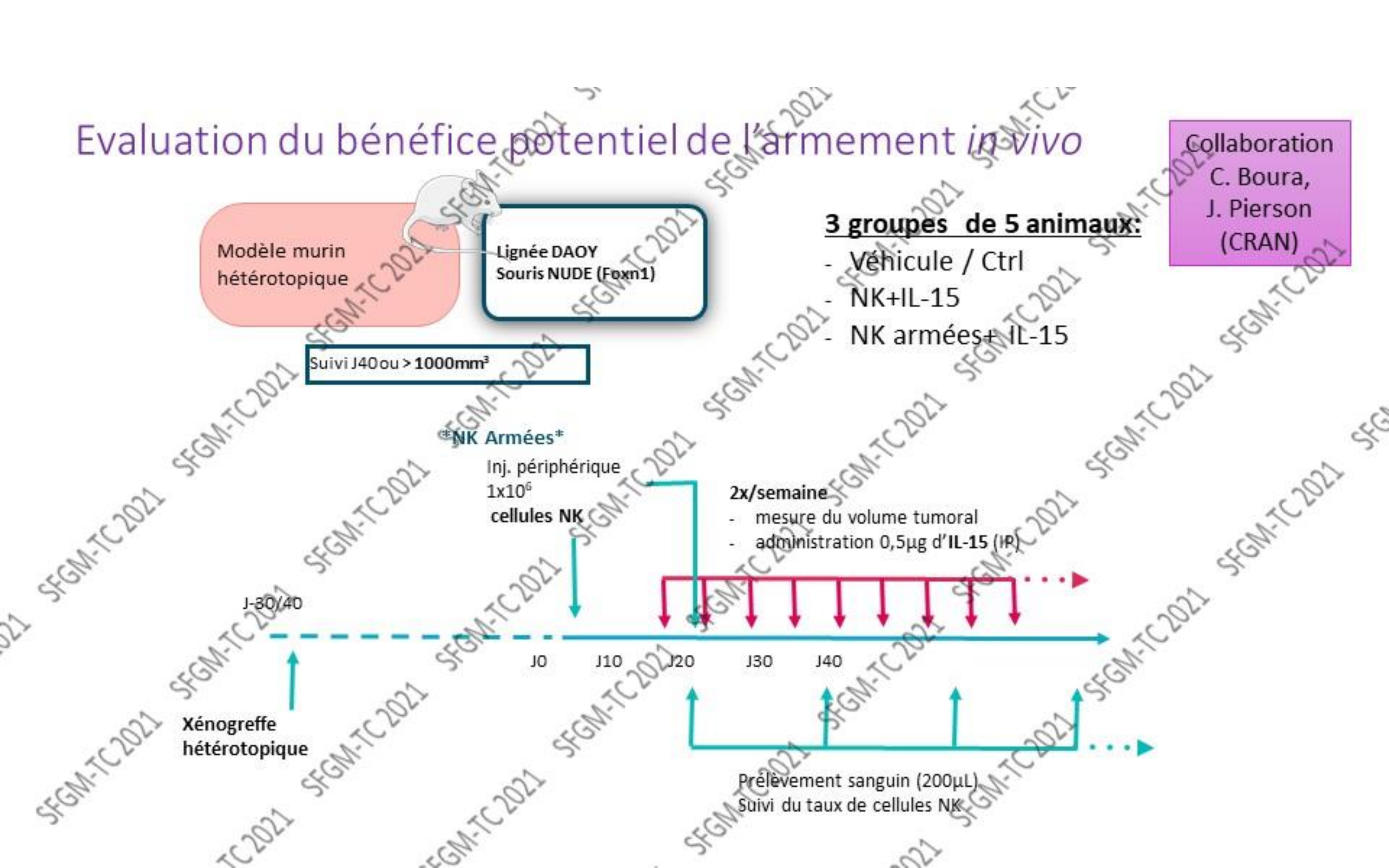
- mesure du volume tumoral
- administration 0,5µg d'IL-15 (IP)

J-30/40

Xénogreffe
hétérotopique

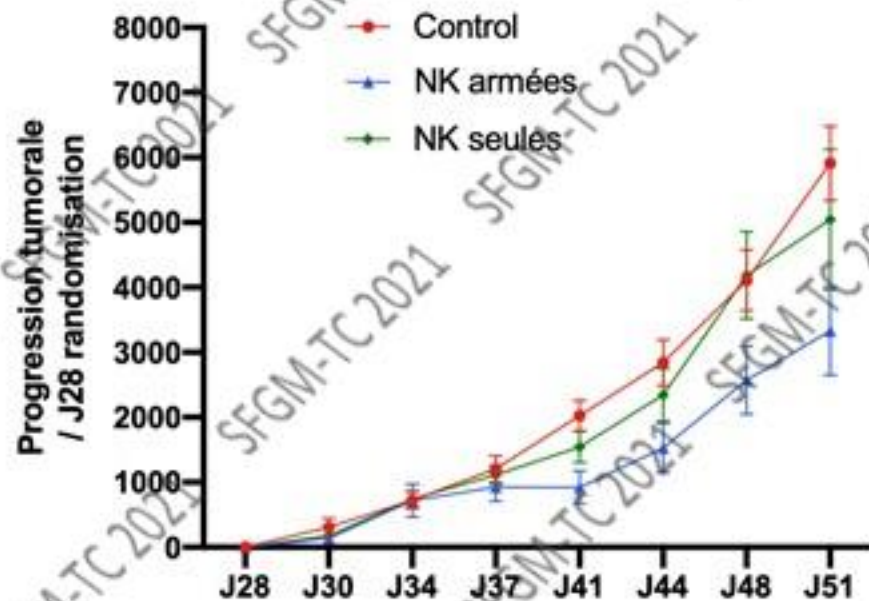
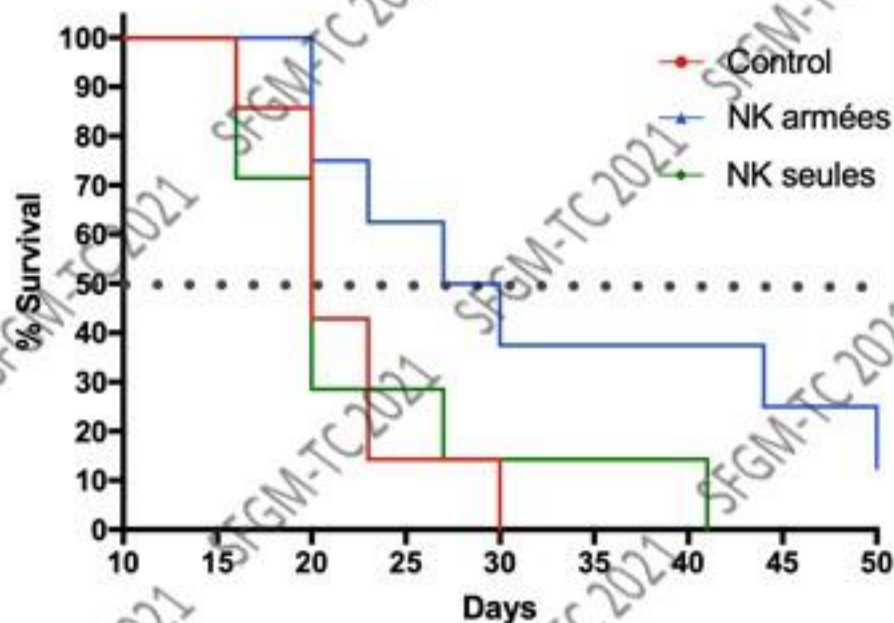
J0 J10 J20 J30 J40

Prélèvement sanguin (200µL)
Suivi du taux de cellules NK





Evolution de la survie et de la progression tumorale



Augmentation de la médiane de survie des individus du groupe traité par cellules NK armées (30 jours contre 20 jours dans le groupe contrôle)

Progression tumorale plus lente dans le groupe traité par cellules NK armées

Absence de détection des cellules NK humaines circulantes

NK armées versus CAR-NK ?

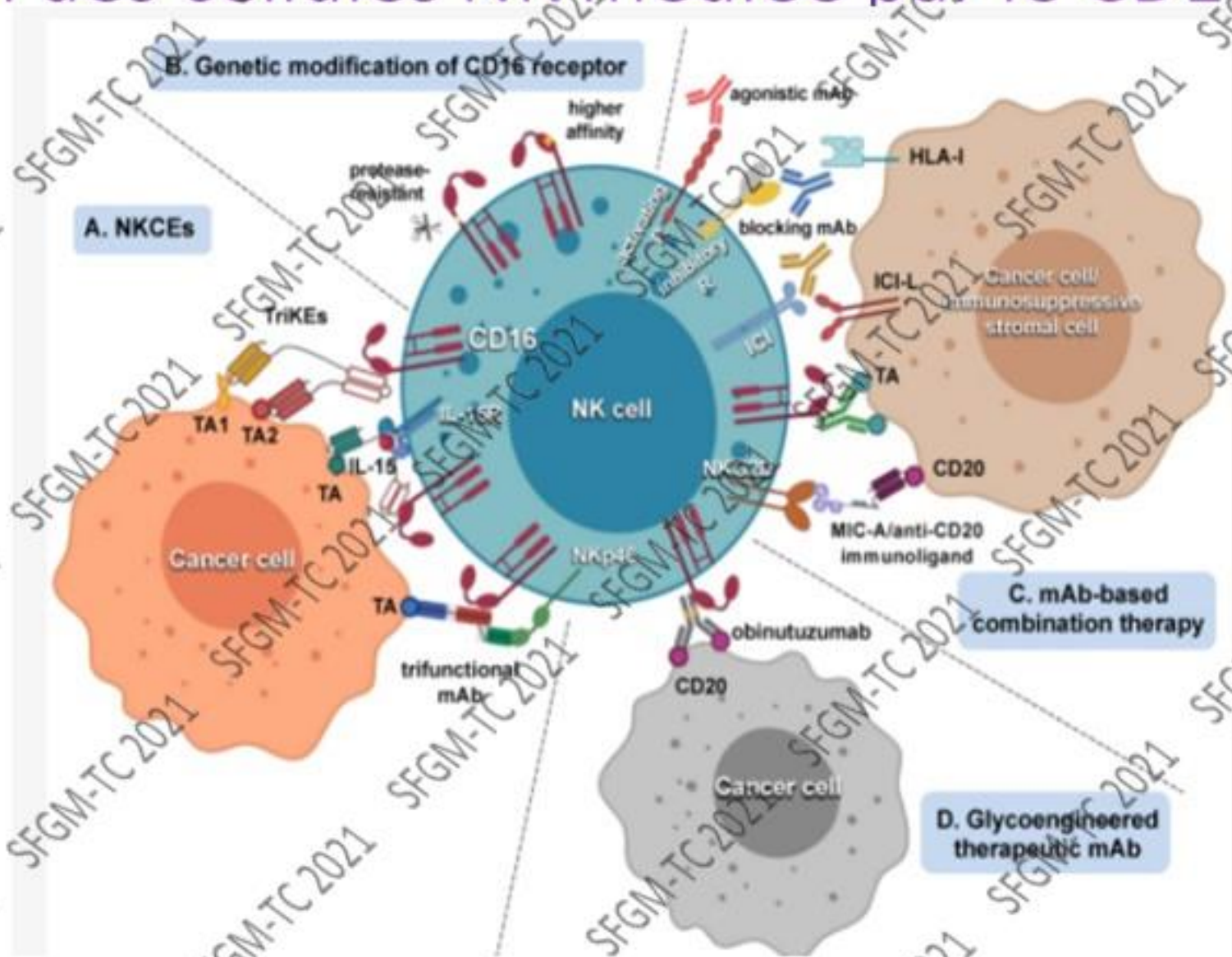
- **Avantages**

- Armement « à la carte » selon la pathologie
- Absence de modification génétique des cellules
- Cout moindre

- **Inconvénients**

- Conditions de l'armement à affiner
- Stabilité de l'armement à étudier
- Persistance des cellules NK armées à déterminer

Perspectives futures: stratégies pour optimiser l'activation des cellules NK médiée par le CD16



En conclusion...



Que se passe t-il lorsque l'on change le milieu après minuit ?



www.chu-nancy.fr



A word cloud of thank-you messages in various languages, including:

- merci
- gracias
- thank you
- gratias
- brigado
- danke
- arigato
- ngiyabonga
- terima kasih
- спасибо
- 謝謝
- terima kasih
- gratias ago
- matondo dhanyavadagatu
- sagolun
- chokrang
- tapadh
- raibh maith agat
- спасибо
- danke
- arigato
- ngiyabonga
- terima kasih
- спасибо
- 謝謝
- terima kasih
- gratias ago
- matondo dhanyavadagatu
- sagolun
- chokrang
- tapadh
- raibh maith agat
- спасибо