

KEYSTONE SYMPOSIA MEETING – WHISTLER CONFERENCE CENTER

B Cells and Tertiary Lymphoid Structures : Emerging Targets in Cancer Therapeutics

Dr Nikhil Joshi (Yale School of Medicine, USA)

La collaboration entre lymphocytes T folliculaires helper et lymphocytes B induite par la présence de néo-antigènes promeut la génération de réponses T CD8 antitumorales

Le laboratoire du Dr Nikhil Joshi met au point des modèles tumoraux murins afin de reproduire les interactions ayant lieu au sein du microenvironnement tumoral, et étudier les réponses immunitaires spécifiques des antigènes associés à la tumeur. A l'aide de souris KP (présentant des mutations des oncogènes Kras et p53 donnant lieu à l'induction spontanée de carcinomes pulmonaires chez ces animaux), des modèles tumoraux précliniques ont été explorés permettant l'expression inductible de néo-antigènes tumoraux qui peuvent être suivis au sein de la tumeur (Damo et al., 2021 & Fitzgerald et al., 2021). Ces modèles représentent une alternative immunogénique au modèle tumoral KP, offrant la possibilité de déchiffrer les mécanismes de défenses immunitaires antitumorales et de réponse aux immunothérapies ciblant les points de contrôle immunitaire dans les adénocarcinomes pulmonaires. Deux modèles sont alors distingués : le modèle KP-NINJA permet l'expression de néo-antigènes reconnus par les lymphocytes T (LT) CD4 et CD8, tandis que dans le modèle KP-HELLO, il est possible d'induire l'expression d'antigène composé de peptides reconnus également par les lymphocytes B (LB). Ce dernier modèle permet, en plus de l'activation des LT CD4 et CD8 spécifiques de la tumeur, de stimuler des LB spécifiques, qui à leur tour jouent un rôle dans l'activation de lymphocytes T folliculaires helper (Tfh).

L'analyse de la base de données TCGA (The Cancer Genome Atlas) a permis à l'équipe du Dr Joshi de corrélérer la présence de lymphocytes B et Tfh au sein de centres germinatifs avec le bon pronostic des patients présentant des adénocarcinomes pulmonaires, et les lymphocytes Tfh étaient également enrichis dans le modèle d'adénocarcinome KP utilisé par le groupe (Cui et al., 2021). L'induction de réponses antitumorales faisant intervenir les lymphocytes B et Tfh dans le modèle KP-HELLO s'accompagnait alors du contrôle de la croissance tumorale des animaux. De plus, il a été démontré que la présence de LB est indispensable à la génération des réponses T antitumorales efficaces, témoignant de l'existence d'une collaboration B/T suite à l'expression du néo-antigène tumoral. Cette collaboration a lieu *via* l'activation par les LB des lymphocytes Tfh, qui à leur tour stimulent les réponses T CD8 antitumorales de manière IL-21-dépendante.

Les résultats obtenus dans ces modèles ont permis d'explorer les déterminants de la réponse des patients aux traitements ciblant les points de contrôle immunitaires, notamment anti-PD-1 en combinaison avec un anti-CD73. On a en effet retrouvé une augmentation de l'expression de gènes impliqués dans l'activation des LB et LT dans le sang des patients répondeurs à ce type d'immunothérapie, ainsi qu'une importante infiltration immunitaire et son organisation en structures lymphoïdes tertiaires (TLS).

Cui C, Wang J, Fagerberg E, Ping-Min C, Connolly KA, et al. Neoantigen-driven B cell and CD4 T follicular helper cell collaboration promotes anti-tumor CD8 T cell responses. Cell. 2021; 184; 6101-6118.

Damo M, Fitzgerald B, Lu Y, Nader M, William I, et al. Inducible de novo expression of neoantigens in tumor cells and mice with NINJA. Nat Biotechnol. 2021; 39(1); 64-73.

En raison de l'interdiction explicite qui a été faite de communiquer, de manière écrite ou orale, les données non publiées présentées lors de ce congrès, le présent résumé a été volontairement limité aux avancées ayant déjà fait récemment l'objet de publications scientifiques. Clémence RIFFARD pour la FITC

KEYSTONE SYMPOSIA MEETING – WHISTLER CONFERENCE CENTER

B Cells and Tertiary Lymphoid Structures : Emerging Targets in Cancer Therapeutics

Dr Abigail Overacre-Delgoffe (Pittsburgh University)

Impact du microbiome sur la fonctionnalité des lymphocytes B et des TLS dans le microenvironnement tumoral colorectal

Le Dr Overacre étudie la génération des réponses immunitaires dirigées contre le cancer colorectal. Sa présentation portait sur l'effet sur ces dernières de la modulation du microbiome colorectal par l'ajout d'*Helicobacter hepaticus* (*Hhep*). Dans un modèle murin de cancer colorectal, la colonisation par *Hhep* des souris porteuses de tumeur s'accompagnait d'un contrôle amélioré de la croissance tumorale, et supportait la formation et la maturation de structures lymphoïdes tertiaires (TLS) associées à la tumeur (Overacre-Delgoffe et al., 2021). L'observation des TLS dans ces expériences a montré qu'elles contenaient à la fois des bactéries *Hhep* et des lymphocytes T folliculaires helper (Tfh) *Hhep*-spécifiques. La déplétion de ces cellules (réalisation de la même expérience chez des souris génétiquement modifiées $Bcl6^{fl/fl}Cd4^{Cre}$ permettant le knock-out du gène *Bcl6* sélectivement dans les cellules $CD4^+$, donc la déplétion des Tfh $CD4^+BCL6^+$) a permis de montrer que les Tfh *Hhep*-spécifiques sont nécessaires et suffisants à la maturation des TLS et au contrôle de la charge tumorale des animaux. Cet effet antitumoral est dépendant des lymphocytes B qui sont activés au sein des TLS par les Tfh *Hhep*-spécifiques. Les travaux du Dr Overacre ont aussi montré que l'espèce de bactérie du genre *Helicobacter* présente dans le microbiome tumoral peut constituer un facteur prédictif de la réponse antitumorale et la réponse aux thérapies ciblant les points de contrôle immunitaire, notamment au traitement par anticorps anti-PD-1 (Hand et al., 2022).

Overacre-Delgoffe AE, Bumgarner HJ, Cillo AR, Burr AHP, Tometich JT, et al. Microbiota-specific T follicular helper cells drive tertiary lymphoid structures and anti-tumor immunity against colorectal cancer. Immunity. 2021; 54(12); 2812-2824.

Hand TW & Overacre-Delgoffe AE. The complex immunological role of Helicobacter in modulating cancer. Trends in Immunol. 2022; 43(10); 826-832.

KEYSTONE SYMPOSIA MEETING – WHISTLER CONFERENCE CENTER

B Cells and Tertiary Lymphoid Structures : Emerging Targets in Cancer Therapeutics

Dr Justin Taylor (Fred Hutchinson Cancer Research Center)

Ingénierie des lymphocytes B pour une application expérimentale ou clinique

Les travaux du Dr Taylor visent à faire exprimer par les lymphocytes B (LB) des patients des anticorps d'intérêt thérapeutique en les modifiant par ingénierie génétique. Des LB naïfs isolés de patients sont modifiés grâce à la technique CRISPR-Cas9 afin de remplacer l'anticorps généré naturellement par ces cellules par l'anticorps protecteur d'intérêt (dirigé contre un antigène surexprimé par les cellules tumorales par exemple). Ces LB sont ensuite différenciés *in vitro* en plasmocytes et LB mémoires spécifiques de la cible d'intérêt, puis réinjectés au patient. Cette thérapie cellulaire autologue s'avère d'un intérêt particulier chez des patients immunodéprimés pour lesquels la vaccination antitumorale n'est pas une option.

L'équipe du Dr Taylor a également travaillé à la mise au point de LB exprimant deux anticorps de spécificité différente, ce qui pourrait encore amplifier le potentiel de cette technique dans des applications en immunothérapies. Notamment, le carcinome de Merkel étant associé au polyomavirus, et les cellules tumorales exprimant dans la majorité des cas l'oncoprotéine de ce virus, l'équipe s'intéresse à ce type de cancer.

Les perspectives abordées sont (1) l'utilisation de la capacité sécrétoire des plasmocytes issus des patients afin de leur faire produire des molécules thérapeutiques d'autre nature (enzyme, cytokine, ...) par ingénierie génétique, et (2) l'ingénierie directement des LB mémoire des patients qui possèdent déjà des capacités sécrétoires, ce qui permettrait de s'affranchir des étapes de différenciation *in vitro* à partir des LB naïfs. Enfin, le groupe explore la possibilité de réaliser cette ingénierie des LB à des fins thérapeutiques en s'affranchissant des étapes réalisées *ex vivo*, en injectant au patient le matériel nécessaire à l'action ciblée de la Cas9 sur les LB, afin de les modifier directement *in vivo* chez les patients.

KEYSTONE SYMPOSIA MEETING – WHISTLER CONFERENCE CENTER

B Cells and Tertiary Lymphoid Structures : Emerging Targets in Cancer Therapeutics

Dr Yuliya Pylayeva-Gupta (University of North Carolina in Chapel Hill)

Déterminants de la fonction et du devenir des lymphocytes B dans les cancers pancréatiques

Le Dr Pylayeva-Gupta et son groupe s'intéressent aux interactions cellulaires prenant place dans le microenvironnement tumoral pancréatique. L'adénocarcinome ductal pancréatique (PDAC) présente un microenvironnement immunitaire particulièrement suppressif, avec la présence de cellules immunosuppressives (macrophages, cellules myéloïdes suppressives, et lymphocytes T régulateurs). L'équipe a concentré ses travaux sur les lymphocytes B (LB) présents dans le microenvironnement tumoral du PDAC. En effet, les LB infiltrent abondamment ce type de tumeur et leur présence a été paradoxalement corrélée à un bon ou à un mauvais pronostic des patients, ce qui soulève la question de l'importance de l'hétérogénéité et de la fonctionnalité des LB dans le microenvironnement tumoral du PDAC.

L'équipe s'intéresse alors à la balance entre LB effecteurs (LBeff) et LB régulateurs (LBreg), et a montré que la production d'IL-35 par les LB contribuait à inhiber les réponses T antitumorales. Chez les patients, la présence de LBreg a été associée à une diminution des plasmocytes, et inversement. Leurs travaux ont montré que la présence de l'IL-35 dans le microenvironnement promeut la différenciation de LBreg et limite l'expansion de plasmocytes, intervenant ainsi comme un facteur clé de la balance Beff/Breg.

Le rôle important de l'activation de la voie cGAS-STING (Stimulator of Interferon Genes) dans les réponses immunitaires anti-tumorales (notamment *via* l'activation des cellules dendritiques et des LT CD8⁺) a conduit à l'utilisation d'agonistes de la protéine STING en immunothérapie. Le traitement par agonistes de STING injectés par voie intratumorale étant utilisé dans plusieurs essais cliniques actuellement, chez des patients présentant différents types de tumeurs solides et des lymphomes, le groupe du Dr Pylayeva-Gupta a étudié l'effet de ce traitement sur la balance Beff/Breg dans un modèle murin de PDAC. Le traitement de souris présentant un PDAC avec cGAMP (molécule agoniste de STING) n'induisait pas de diminution de la croissance tumorale chez ces dernières, de plus l'activation de STING dans les LB a été montrée comme promotrice de la croissance tumorale. Une explication à ces observations est que l'activation de la voie de signalisation de STING induit la production d'IL-35 par les LB, entraînant ainsi leur différenciation en LBreg, et promouvant un microenvironnement immunosuppressif.

Le transfert de LB naïfs déficients pour Bcl6 dans des souris ensuite inoculées avec des cellules tumorales (modèle KPC) a permis d'induire une diminution des Breg au profit d'une augmentation des plasmocytes (illustrée aussi par l'augmentation de la teneur en IgG et IgM de la tumeur). La présence d'agrégats de LB a également été décrite au niveau des tumeurs formées.

Ces différents travaux identifient donc des acteurs moléculaires qui pourraient servir de levier pour jouer sur la balance Beff/Breg. En effet, l'inhibition de Bcl6 ou de l'IL-35 vont dans le sens d'une augmentation du ratio plasmocytes/Breg et donc favorisent la mise en place d'une réponse B antitumorale, et ainsi un contrôle de la croissance tumorale dans le contexte des PDAC. Cet effet s'accompagnait d'une amplification de la réponse des souris à l'immunothérapie par anticorps anti-PD-1 en combinaison avec un inhibiteur de Bcl6.

Li S, Mirlekar B, Johnson BM, Brickey WJ, Wrobel JA, et al. STING-induced regulatory B cells compromise NK function in cancer immunity. Nature. 2022 Oct;610(7931):373-380. doi: 10.1038/s41586-022-05254-3.

Mirlekar B, Wang Y, Li S, Zhou M, Entwistle S, et al. Balance between immunoregulatory B cells and plasma cells drives pancreatic tumor immunity. Cell Reports Medicine. 2022. doi: 10.1016/j.xcrm.2022.100744.

Attention, ceci est un compte-rendu de congrès et/ou un recueil de résumés de communications dont l'objectif est de fournir des informations sur l'état actuel de la recherche ; ainsi, les données présentées sont susceptibles de ne pas être validées par les autorités de santé françaises et ne doivent donc pas être mises en pratique. Le contenu est sous la seule responsabilité des auteurs qui sont garants de son objectivité.