

ElyssaMed[®], une pépite de l'Inserm et Gustave-Roussy dédiée à l'immunothérapie anticancéreuse

ElyssaMed[®], a spin-off of Inserm and Gustave-Roussy, dedicated to cancer immunotherapy

Aurélie Durgeau^{1,2}
Cédric Poigneau²
Jean-Luc Harousseau^{2,3}
Fathia Mami-Chouaib^{1,2}

¹ Inserm UMR 1186
Immunologie intégrative des tumeurs et génétique oncologique
Institut Gustave-Roussy
114, rue Édouard-Vaillant
94805 Villejuif
France
<aurelie.durgeau@elyssamed.com>
<fathia.mami-chouaib@gustaveroussy.fr>

² ElyssaMed
Paris Biotech Santé
75014 Paris
France
<cedric.poigneau@elyssamed.com>
<jl.harousseau@yahoo.fr>

³ Institut de cancérologie de l'Ouest
Boulevard Jacques-Monod
44805 Nantes/Saint-Herblain
France

Remerciements et autres mentions :

Financement : l'INCa-DGOS 2012, fond de maturation de GR-T, l'Association pour la recherche sur le cancer (ARC), BpiFrance (AIMA-Labo 2014), le ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI : Émergence 2014).

Liens d'intérêts : F.M.C. est fondatrice d'ElyssaMed[®].

RÉSUMÉ

L'émergence d'immunothérapies anticancéreuses s'est accélérée ces dernières années avec de belles promesses d'efficacité. ElyssaMed[®] a pour ambition de développer une immunothérapie active innovante pour lutter contre les cancers exprimant la préprocalcitonine (ppCT). Cet antigène tumoral se distingue par sa capacité d'induire une réponse des lymphocytes T CD8⁺ dirigée contre les tumeurs ayant tenté d'échapper au système immunitaire. Son objectif est de combiner cette immunothérapie anticancéreuse avec un anticorps anti-PD-1 et à terme de l'étendre à des néoantigènes mutés identifiés dans la tumeur de chaque patient pour une médecine plus personnalisée.

Mots clés : onco-immunologie ; immunothérapie anticancéreuse ; lymphocytes T cytotoxiques ; antigènes tumoraux ; apprêtement et présentation de l'antigène.

ABSTRACT

Recent advances in cancer treatment have emerged leading to new immunotherapies targeting T-cell inhibitory receptors, such as PD-1. ElyssaMed aims at developing an innovative cancer immunotherapy based on a new tumour antigen, the preprocalcitonin (ppCT). This antigen is unique because it includes a non-mutated neoepitope that enables the immune system to combat tumour escape from CD8 T-cell immunity. The company's vision is to combine this active immunotherapy with an anti-PD-1 antibody and then to expand this strategy to mutant neoantigens identified in the tumours of each cancer patient for more personalized treatment.

● **Key words:** onco-immunology; cancer immunotherapy; cytotoxic T lymphocytes; tumor antigens; antigen processing and presentation.

Abréviations

CBNPC : cancer bronchique non à petites cellules ; CBPC : cancer bronchique à petites cellules ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; CTL : lymphocytes T cytotoxiques ; PBMC : cellules mononucléées du sang périphérique ; ppCT : préprocalcitonine ; SP : *signal peptidase* ; SPP : *signal peptide peptidase* ; TIL : lymphocytes infiltrant la tumeur (*tumor-infiltrating lymphocytes*) ; TAP : transporteur de l'antigène (*transporter-associated with antigen processing*) ; TCR : récepteur des cellules T (*T-cell receptor*).

Tirés à part : F. Mami-Chouaib

Pour citer cet article : Durgeau A, Poigneau C, Harousseau JL, Mami-Chouaib F. ElyssaMed[®], une pépite de l'Inserm et Gustave-Roussy dédiée à l'immunothérapie anticancéreuse. *Innov Ther Oncol* 2018 ; 4 : 152-156. doi : 10.1684/ito.2018.0119

Le système immunitaire a pour fonction le maintien de l'intégrité du soi. Bien que son rôle majeur soit l'élimination des agents infectieux, son implication dans le contrôle du développement des cancers, bien que longtemps controversée, est maintenant établie. Dans ce cadre, une réponse antitumorale a été mise en évidence dans plusieurs types de cancers, avec l'identification de lymphocytes T cytotoxiques (CTL, une classe de globules blancs tueurs) spécifiques capables de détruire les cellules malignes. Malheureusement, l'efficacité de cette réponse immunitaire spontanée est souvent faible. Cela est vraisemblablement dû, au moins en partie, à l'écosystème très particulier de la tumeur qui altère la fonctionnalité des cellules immunitaires. Ainsi, plusieurs stratégies immunothérapeutiques ont été développées dont le but est d'aider le système immunitaire de l'hôte afin de mieux combattre le cancer. Une des premières évidences qu'une manipulation du système immunitaire peut conduire à la régression de cancers fut établie par l'administration de l'interleukine 2 (IL-2) à des patients atteints de cancer du rein ou de mélanome [1]. Il s'agit ici d'une approche non spécifique car elle ne permet pas de distinguer les lymphocytes T antitumoraux des autres lymphocytes de spécificités antigéniques diverses ; elle présente de plus des effets secondaires notables.

Les progrès en immunologie antitumorale ont permis d'identifier des antigènes tumoraux présentés à la surface des cellules cancéreuses par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sous forme de peptides antigéniques reconnus spécifiquement par les cellules T grâce à leur récepteur (TCR). L'identification des premiers antigènes tumoraux a ouvert la porte à de nouvelles immunothérapies antitumorales, dites spécifiques [2].

Encadré 1

Rappel : pour être reconnues par les lymphocytes T CD8⁺, les protéines cytosoliques, dont les antigènes tumoraux, doivent subir une première étape de dégradation dans le protéasome, un système protéolytique composé d'un complexe cylindrique 20S associé de part et d'autre à un complexe régulateur 19S. Les peptides issus de cette dégradation sont acheminés dans le réticulum endoplasmique par les molécules TAP. Ils sont ensuite chargés sur des molécules du CMH de classe I avant d'être présentés à la surface des cellules cibles.

Ces immunothérapies consistent à utiliser les antigènes tumoraux ou des peptides issus de ces antigènes comme agents thérapeutiques afin d'activer spécifiquement la réaction immunitaire contre les cellules cancéreuses. Toutefois, bien que bénéfiques dans certains cancers, les réponses cliniques à ces immunothérapies actives restent en général limitées [3]. Cela est probablement associé à la capacité des cellules tumorales à échapper au

système immunitaire et à l'émergence de variants tumoraux résistants aux traitements.

Les avancées récentes dans notre compréhension de la régulation des activités des lymphocytes T cytotoxiques et du mode de fonctionnement de récepteurs inhibiteurs, comme CTLA-4 et PD-1 (appelés aussi des *checkpoints* immunitaires), régulant négativement la signalisation des cellules T, ont conduit à de nouvelles approches très prometteuses en immunothérapie anticancéreuse. Des thérapies fondées sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux neutralisants, dirigés en particulier contre CTLA-4 et PD-1, ont montré un bénéfice clinique dans plusieurs cancers, y compris les cancers du poumon. Néanmoins, bien que ces traitements aient permis d'améliorer la survie de certains patients, le taux de réponse reste limité (environ 20 % des patients atteints de cancer du poumon). Un enjeu majeur en oncologie est donc d'identifier des biomarqueurs de prédiction de ces réponses.

« L'immunothérapie a révolutionné le traitement des cancers »

Des études ont suggéré que la présence d'une quantité importante de lymphocytes T CD8⁺ exprimant PD-1 et de cellules exprimant PD-L1 à l'intérieur et à la marge de la tumeur pouvait prédire une réponse aux anticorps anti-PD-1 [4]. Dans une autre étude, c'est plutôt l'état d'activation des cellules T infiltrant la tumeur qui semble prédire la réponse [5]. La présence de nombreux antigènes mutés (néoantigènes), comme cibles potentielles d'une réaction immunitaire antitumorale, pourrait servir de marqueur prédictif de réponse aux anticorps anti-PD-1 et anti-CTLA-4 mais cela nécessite d'être mieux exploré [6-8]. De plus, les tumeurs acquièrent souvent des mécanismes de résistance à ces nouveaux traitements, telle qu'une altération de la présentation de l'antigène aux lymphocytes T CD8⁺ par les molécules du CMH de classe I suite à une perte d'expression de la bêta-2-microglobuline (β2m) [9].

ppCT, un nouvel antigène qui permet de contourner l'échappement tumoral à l'immunité T CD8

Grâce à une approche génétique qui consiste à cloner le gène qui code l'antigène tumoral et un couple formé d'un clone de lymphocytes T cytotoxiques appelé Heu161, isolé à partir des lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL) d'un patient (Michel) atteint d'un cancer pulmonaire, et d'une lignée tumorale autologue (IGR-Heu), la préprocalcitonine (ppCT) a été identifiée pour la première fois comme cible d'une réponse antitumorale des lymphocytes T CD8⁺ [10]. Précurseur de la calcitonine, une hormone impliquée dans le métabolisme calcique et sécrétée en petites quantités par les cellules parafolliculaires de la thyroïde, la ppCT est produite à des taux élevés par plusieurs cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) et des cancers

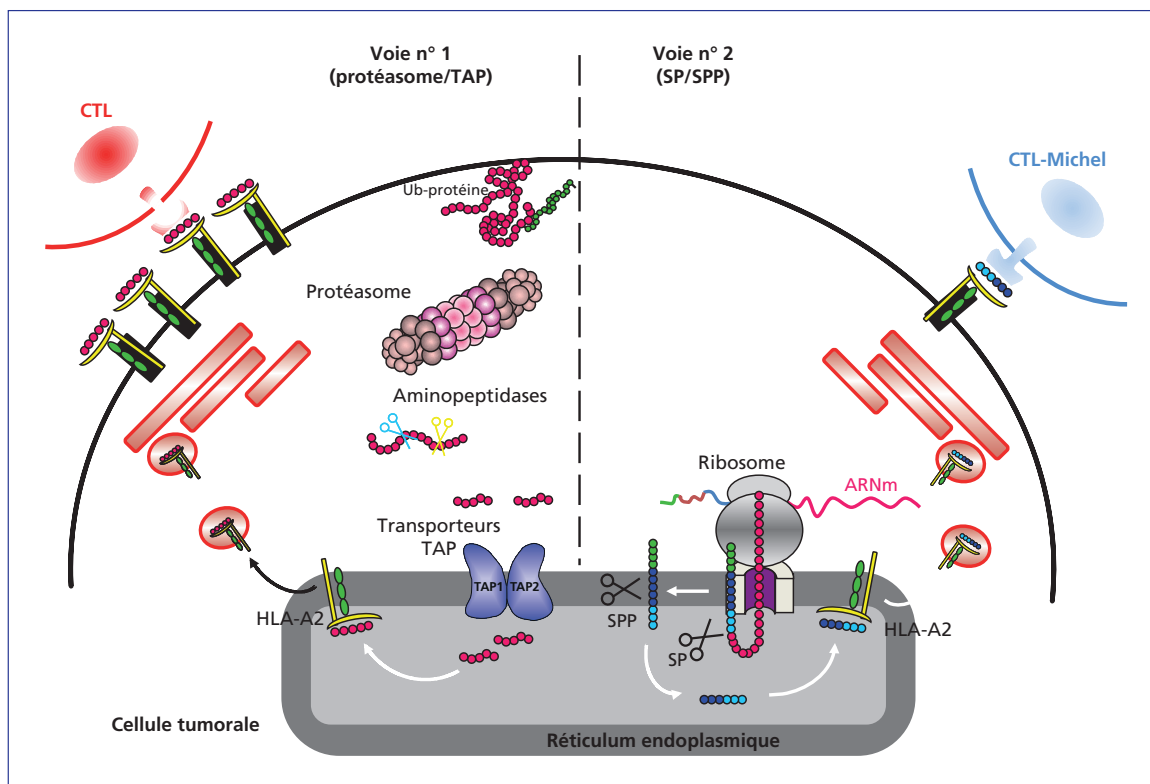


Figure 1. Voies d'apprêtement des antigènes reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques. Voie n° 1 : voie conventionnelle protéasome/TAP (*transporter-associated with antigen processing*) ; voie n° 2 : voie alternative SP/SPP (*signal peptidase/signal peptide peptidase*) permettant d'éliminer les cellules tumorales ayant modulé négativement les transporteurs TAP (TAP1 et/ou TAP2). Elle permet d'apprêter l'épitope ppCT₁₆₋₂₅.

Figure 1. Processing mechanisms of tumour antigen, recognized by cytotoxic T lymphocytes. Pathway #1: the conventional pathway involving the proteasome and TAP. Pathway #2: an alternative pathway involving SP and SPP, which enables cytotoxic T lymphocytes to recognize and eliminate tumours that have escaped the immune system. This pathway is involved in the processing of the ppCT₁₆₋₂₅ epitope.

bronchiques à petites cellules (CBPC) ainsi que des tumeurs neuroendocrines et tous les cancers médullaires de la thyroïde.

« La ppCT, une cible thérapeutique de choix contre des cancers résistants aux traitements »

Ce nouvel antigène tumoral est capable d'induire une réponse lymphocytaire T CD8⁺ chez des patients atteints de CBNPC, dont le patient Michel qui a bénéficié d'une longue survie après l'exérèse de sa tumeur en 1996, possiblement grâce à cette réponse lymphocytaire T CD8⁺ spécifique de la ppCT [11].

Le peptide antigénique, ppCT₁₆₋₂₅, reconnu par le clone Heu161 dans un contexte HLA-A2, est issu du peptide signal de la préprohormone. Cet épitope se distingue de tous les autres épitopes des lymphocytes T CD8⁺ humains connus à ce jour par sa voie d'apprêtement qui permet de contourner l'échappement tumoral. En effet, contrairement à la grande majorité des épitopes T CD8⁺ qui sont apprêtés (dégradés) par la voie conventionnelle dite protéasome/TAP (*transporter-associated with antigen*

processing), l'épitope ppCT₁₆₋₂₅ est apprêté directement dans le réticulum endoplasmique par une nouvelle voie impliquant la *signal peptidase* et la *signal peptide peptidase* (SP/SPP) (figure 1) [10]. Il est bien connu que les tumeurs, y compris les tumeurs pulmonaires, régulent souvent négativement l'expression des TAP pour échapper au système immunitaire [12]. De manière intéressante, le néoépitope non muté ppCT₁₆₋₂₅ permet de contourner cette voie d'échappement et représente donc une alternative de choix aux lymphocytes T cytotoxiques pour éliminer les cibles tumorales ayant modulé négativement les transporteurs de peptides TAP [13].

Encadré 2

À retenir : l'épitope ppCT₁₆₋₂₅ est dérivé de l'extrémité C-terminale du peptide signal de la ppCT. Il est libéré directement dans le réticulum endoplasmique des cellules cibles d'une manière indépendante du protéasome et des transporteurs TAP grâce à un clivage par deux protéases différentes, la *signal peptidase* (SP) et la *signal peptide peptidase* (SPP). Cet épitope correspond

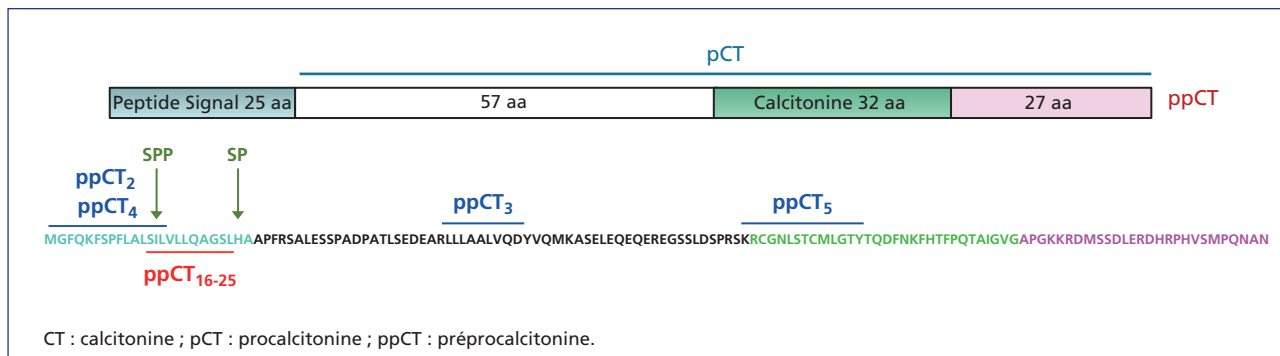


Figure 2. Localisation des différents peptides antigéniques de la ppCT.

Figure 2. Localization of ppCT antigenic peptides.

au seul peptide antigénique humain connu à ce jour dont la présentation est optimisée à la suite d'une modulation des TAP. Il permet donc à l'immunité lymphocytaire T CD8⁺ d'éliminer les cellules tumorales ayant perdu ou modulé négativement les molécules TAP1 et/ou TAP2 et contourner ainsi ce mécanisme d'échappement tumoral au système immunitaire.

Des recherches complémentaires ont permis d'identifier d'autres épitopes de lymphocytes T CD8⁺ issus de la ppCT qui sont naturellement apprêtés dans les cellules tumorales par la voie classique protéasome/TAP (figure 2). L'avantage d'utiliser des épitopes dépendants et indépendants des transporteurs TAP est d'induire une réponse lymphocytaire T CD8⁺ contre toutes les cellules cancéreuses, quel que soit leur statut TAP, et éradiquer ainsi la tumeur. Un cocktail de peptides ppCT a ensuite été préparé et sa capacité d'induire une réponse immunitaire spécifique a été montrée à la fois *in vitro*, en utilisant les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) de plusieurs patients atteints de cancer du poumon, et *in vivo*, dans des modèles précliniques de souris humanisées transgéniques pour les molécules HLA-A2. La preuve de concept d'une immunothérapie active fondée sur la ppCT a enfin été validée *in vivo* en démontrant que le cocktail peptidique, délivré avec un adjuvant déjà commercialisé, est capable de contrôler la progression tumorale et de prolonger la survie des animaux grâce à l'induction d'une réponse lymphocytaire T spécifique [14]. De plus, la combinaison de cette immunothérapie avec un anticorps anti-PD-1 a permis d'optimiser la réponse antitumorale dans un modèle de souris immunodéficientes transférées avec des PBMC humaines et greffées avec la tumeur pulmonaire humaine exprimant faiblement le complexe HLA-A2/peptides ppCT (IGR-Heu).

ElyssaMed[®] est née en décembre 2015

ElyssaMed[®] est une société en biotechnologie dédiée à l'immunothérapie anticancéreuse. Son objectif est de développer une immunothérapie active innovante fondée

sur la ppCT pour traiter les patients atteints de cancer du poumon dans un premier temps. L'originalité de sa stratégie tient du fait qu'elle vise à éliminer les tumeurs qui ont tenté d'échapper au système immunitaire en se rendant invisibles à l'immunité lymphocytaire T CD8⁺. ElyssaMed[®] se concentrera d'abord sur la validation de l'efficacité de son traitement immunothérapeutique composé du cocktail peptidique ppCT et de l'adjuvant qu'elle combinera en parallèle avec une immunothérapie *checkpoint blockade*, en particulier des anticorps anti-PD-1 ou anti-PD-L1. L'objectif est de manipuler le système immunitaire en induisant une réponse antitumorale spécifique, puis de le déverrouiller en levant les freins engendrés par l'interaction de PD-1 (exprimé à la surface des lymphocytes T cytotoxiques) avec PD-L1 (exprimé à la surface des cellules tumorales), optimisant ainsi la réponse antitumorale.

Encadré 3

En résumé : ElyssaMed[®], *spin-off* de l'institut Gustave-Roussy et de l'Inserm, a été fondée par le Dr Fathia Mami-Chouaib en décembre 2015. Cette *start-up* en biotechnologie a pour mission de développer une immunothérapie active contre le cancer du poumon, ainsi que d'autres types de cancers, dont le caractère innovant est de permettre au système immunitaire de contourner l'échappement tumoral et de combattre ainsi les tumeurs résistantes aux traitements. Protégée par deux brevets internationaux, dont un a déjà été délivré en Europe, États-Unis, Canada, Japon, Chine et Australie, l'immunothérapie anticancéreuse développée par ElyssaMed[®] repose sur un cocktail de peptides antigéniques issus de la ppCT et d'un adjuvant. Les fondateurs estiment que cette immunothérapie permettra de prolonger la survie des patients atteints de cancer pulmonaire, entre autres, et d'améliorer leur qualité de vie. Elle sera combinée avec un inhibiteur de *checkpoints*, en particulier anti-PD-1, pour à la fois éduquer et déverrouiller le système immunitaire, et augmenter ainsi la chance de répondre au traitement.

L'entreprise envisage ensuite d'appliquer son immunothérapie à d'autres types de cancers avec toujours en ligne de mire les cancers exprimant la ppCT. Parmi ces cancers, les cancers classés « maladies orphelines », tels que les cancers médullaires de la thyroïde et les tumeurs neuroendocrines. Un test compagnon déjà mis au point par l'équipe permettra de sélectionner les patients éligibles à l'immunothérapie. ElyssaMed[®] poursuivra le développement d'autres thérapies anticancéreuses en identifiant de nouveaux épitopes présentés par d'autres molécules HLA pour couvrir le plus grand nombre de patients et élargir ainsi l'offre actuelle de soins. Son ambition est aussi de développer une immunothérapie adoptive fondée sur le transfert de cellules cytotoxiques manipulées pour exprimer un TCR spécifique de la ppCT (TCR-T-cells). Sa vision à plus long terme est de proposer une immunothérapie personnalisée dont le produit sera composé non seulement de l'antigène ppCT, mais aussi de peptides antigéniques mutés, appelés néoépitopes, identifiés dans la tumeur de chaque patient. Des vaccins thérapeutiques anticancéreux fondés sur des néoépitopes mutés ont très récemment montré leur efficacité dans le mélanome, notamment en combinaison avec des inhibiteurs de *checkpoints* immunitaires [15, 16].

À un horizon de deux à trois ans, ElyssaMed[®] se concentrera sur le développement de son premier médicament immunothérapeutique anticancéreux constitué d'un cocktail de peptides antigéniques issus de la ppCT et d'un adjuvant pour lutter contre les CBNPC qui représentent 80 % des cancers du poumon. Ce traitement sera administré aux patients soit seul, soit en combinaison avec un anticorps bloquant dirigé contre le récepteur inhibiteur PD-1 ou son ligand PD-L1. Un essai clinique de phase Ib-2 sera conduit à l'institut Gustave-Roussy sur une cohorte de patients HLA-A2⁺ atteints de cancer pulmonaire métastatique pour explorer la toxicité et l'efficacité préliminaire de cette monothérapie ou en combinaison avec un anti-PD-1(-L1). Les patients seront sélectionnés grâce au test compagnon déjà mis au point dans le laboratoire.

ElyssaMed[®] est fortement soutenue par l'institut de cancérologie Gustave-Roussy, Gustave-Roussy-Transfert (GR-T), Paris Biotech Santé et l'Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm). Elle a déjà bénéficié de plusieurs subventions et distinctions, notamment l'INCa-DGOS 2012, fond de maturation de GR-T, l'Association pour la recherche sur le cancer (ARC), BpiFrance (AIMA-Labo 2014), le ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation (MESRI : Émergence en 2014 et iLab en 2017) et du Grand Prix de l'innovation de la ville de Paris en 2016 (catégorie santé).

Encadré 4

Membres actifs d'ElyssaMed[®] : Dr Aurélie Durgeau, chef de produit préclinique, en charge de la R&D préclinique ; Cédric Poigneau, président/chief executive officer (CEO),

responsable de la stratégie de développement du candidat médicament ; Pr Jean-Luc Harousseau, *chief medical officer* (CMO), consultant, ancien président de la Haute Autorité de santé (HAS), ancien chef du service d'hématologie du CHU de Nantes et ancien directeur du CLCC René-Gauducheau ; Dr Fathia Mami-Chouaib, experte auprès d'ElyssaMed[®] et présidente du conseil scientifique, docteur en immunologie, directrice de recherche à l'Inserm et directrice de l'UMR 1186 à Gustave-Roussy.

RÉFÉRENCES

- Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med* 1988 ; 319 : 1676-80.
- Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P, Boon T. Tumor antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2014 ; 14 : 135-46.
- Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004 ; 10 : 909-15.
- Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature* 2014 ; 515 : 568-71.
- Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014 ; 515 : 563-7.
- Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med* 2014 ; 371 : 2189-99.
- Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 2015 ; 348 : 124-8.
- McGranahan N, Furness AJ, Rosenthal R, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science* 2016 ; 351 : 1463-9.
- Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma. *N Engl J Med* 2016 ; 375 : 819-29.
- El Hage F, Stroobant V, Vergnon I, et al. Preprocalcitonin signal peptide generates a cytotoxic T lymphocyte-defined tumor epitope processed by a proteasome-independent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 ; 105 : 10119-24.
- Mami-Chouaib F, El Hage F, Stroobant V, Coulie PG. *Patent 1: preprocalcitonin-derived peptide as a tumor rejection epitope. Preprocalcitonin-derived peptide as a tumor rejection epitope. European Patent N° EP072907 77.7. 2007. International extension: PCT/FR2008/000853; et PCT number: WO 2009/0108742010. Délivré en 2012, 2013 et 2015 en Europe, États-Unis, Australie, Chine, Japon et Canada.*
- Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ, Ferrone S. Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 2000 ; 74 : 181-273.
- Durgeau A, El Hage F, Vergnon I, et al. Different expression levels of the TAP peptide transporter lead to recognition of different antigenic peptides by tumor-specific CTL. *J Immunol* 2011 ; 187 : 5532-9.
- Mami-Chouaib F, Durgeau A. *Patent 2 (lead product): preprocalcitonin immunogenic peptides. European Patent No. 15176174.9-1403. Demande internationale n° PCT/EP 2016/065733 (2016). 2015.*
- Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature* 2017 ; 547 : 222-6.
- Ott PA, Hu Z, Keskin DB, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature* 2017 ; 547 : 217-21.