

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 605

Biologie-Santé

Spécialité : « *Biologie cellulaire et biologie du développement* »

Par

Audrey GRAIN

Recherche de cibles antigéniques d'intérêt dans les leucémies aiguës lymphoblastiques B de l'enfant

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le 5 février 2025

Unité de recherche : UMR S CNRS 6075 UMR1307 Centre de Recherche en cancérologie et Immunologie Intégrée Nantes – Angers CRCI2NA

Rapporteurs avant soutenance :

Virginie Gandemer PU-PH Hématologie pédiatrique CHU de Rennes
Christophe Ferrand Directeur de Recherche EFS Besançon UMR1098

Composition du Jury :

Président : (*à préciser après la soutenance*)

Examineurs : André Baruchel

Dir. de thèse : Emmanuel Scotet

Co-dir. de thèse : Béatrice Clémenceau

Co-en de thèse : Marion Eveillard

PU-PH hématologie pédiatrique – Hôpital Robert Debré APHP

Directeur de Recherche – UMR1307 – CRCI2NA

Ingénieur hospitalier principal – UMR1307 – CRCI2NA

PU-PH Hématologie biologique – CHU de Nantes

Invité(s)

Christèle Gras-Leguen

PU-PH - Urgence pédiatrique CHU de Nantes

Titre : Recherche de cibles antigéniques d'intérêt dans les leucémies aigües lymphoblastique B de l'enfant

Mots clés : Leucémie aigüe Lymphoblastique B – Thérapie ciblée - ADCC

Résumé : Contexte : Les anticorps monoclonaux ou les cellules CAR-T anti-CD19 autologues ont révolutionné le traitement des leucémies aigües lymphoblastique B (LAL-B) réfractaires ou en rechute. Cependant, au décours de ces thérapies ciblées, près de la moitié des patients rechutent par échappement tumoral *via* une modulation antigénique. Des stratégies de ciblage de plusieurs antigènes simultanément doivent être développées. Il est donc urgent d'identifier et de valider de nouvelles cibles.

Méthodes : Un immunophénotypage large a été réalisé sur 13 échantillons de moelle provenant de patients pédiatriques atteints de LAL-B à l'aide du Biolegend® Human Cell Surface Marker Screening Kit. Des tests de cytotoxicité sur 24h, réalisés avec des LT équipés du CD16 développés au laboratoire, ont été menés afin de déterminer si la reconnaissance des antigènes sélectionnés, par des anticorps monoclonaux murins, pouvait conduire à la lyse des cellules leucémiques par cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC),

Résultats : 13 antigènes fortement exprimés ont été sélectionnés. Seuls quelques-uns d'entre eux induisent une lyse par ADCC une fois reconnus par les anticorps murins et les LT-CD16. Pour la majorité des LAL-B testées, la lyse la plus importante a été observée en ciblant CD24 et CD156c. Les tests d'ADCC en multiciblage ont révélé que le double ciblage de CD24-CD123 pouvait induire une ADCC parfois plus efficace. De manière surprenante, le triple ciblage a été associé à une réduction de l'activité ADCC.

Conclusion : Le CD24 est apparu comme une cible d'intérêt dans la LAL-B, et la combinaison du CD24 et du CD123 comme une stratégie de double ciblage potentiellement efficace. La combinaison de différentes modalités de reconnaissance (par exemple, un récepteur d'antigène chimérique et le CD16) devrait être testée pour déterminer si elle fournit une activité cytotoxique synergique en triple ciblage.

Titre : Identification of new antigenic targets of interest in pediatric B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia

Keywords : B-Acute lymphoblastic leukemia – Targeted therapy – ADCC

Abstract : Background: Monoclonal antibodies or autologous anti-CD19 CAR-T cells have revolutionized the treatment of relapsed or refractory B-acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL). However, after these mono-antigen targeting immunotherapies, tumor escape through antigenic modulation accounts for almost 40% of relapses. Multi-antigens targeting strategies should be developed and it is therefore urgent to identify and validate new targets.

Methods: Extensive immunophenotyping of 13 marrow samples from pediatric patients with BCP-ALL was performed using the Biolegend® Human Cell Surface Marker Screening Kit. Long-term killing assays were performed, by using human T cells genetically modified to express the murine CD16, previously developed in the laboratory, to assess whether targeting each antigen alone or in combination

with murine monoclonal antibodies could lead to leukemic cell lysis by antibody dependant cellular cytotoxicity (ADCC).

Results: Thirteen highly expressed antigens were selected. Of these, only a few lead to ADCC mediated lysis when targeted. For the majority of BCP-ALL tested, the most significant lysis was observed by targeting CD24 and CD156c. Multi-targeting ADCC assays revealed that double targeting of CD24-CD123 appeared to be even more effective. Surprisingly triple targeting was associated with a reduction in ADCC activity.

Conclusion: CD24 emerged as an effective target in BCP-ALL, and the combination of CD24 and CD123 as a potential effective double-targeting strategy. The combination of different recognition modalities (e.g. a chimeric antigen receptor and CD16) should be tested to determine whether it provides synergistic cytotoxic activity in triple targeting strategies.