



The 2nd PSU International Teaching Platform on Tumour Immunology and Immunotherapy

Jointly organized by
Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie (Paris 6) and Institut Pasteur

December 15 – 20, 2003
At The Department of Biomedical Sciences
Faculty of Medicine, Prince of Songkla University,
Hat Yai, Songkhla, Thailand

Lecture 7:
Specific therapy – T lymphocytes
Prof. Hervé Fridman

December 16, 2003

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

- Greffon de « CSH »
 - cellules souches
 - cellules immunocompétentes: lymphocytes T, cellules NK,...
- Reconnaissance allogénique
 - tissus sains: l'effet Greffon vs Hôte (la GvH)
 - hématopoïèse résiduelle: prévention de l'effet Hôte vs Greffe (HvG)
 - cellules d'hémapathies malignes: l'effet Greffon vs Leucémie (la GvL)

Greffe de CSH allogénique:

- greffe hématopoïétique
- immunothérapie adoptive allogénique

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Greffe hématopoïétique

- Greffon
 - moelle osseuse
 - sang après mobilisation
 - placenta / cordon
- Donneur
 - autologue
 - allogénique
 - geno-id intra-familiale
 - pheno-id (donneur du ficher)
 - haplo-identique intra-familiale
- Greffe à conditionnement
 - myelo-ablatif
 - non myelo-ablatif

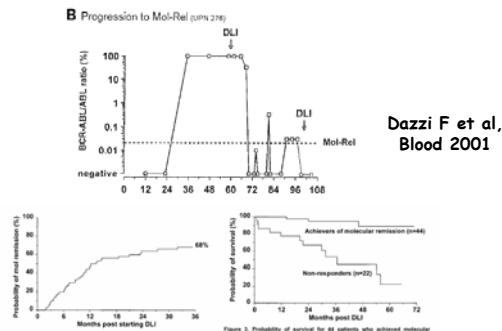
2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

La GvL

- Barnes (1955): Souris leucémique
 - greffe de moelle syngénique: décès par récédive leucémique
 - greffe de moelle allogénique: pas de récédive mais décès ultérieur par GvH
- Mathé (1965)
 - "guérir la leucémie par la GvH"
- Effet GvL
 - disparité allogénique
 - lymphocytes T matures dans le greffon
 - potentialisé par la survenue d'une GvH
 - rôle des cellules Natural Killer et lymphocytes $\gamma\delta$?

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Infusion de lymphocytes T lors d'une rechute de LMC après greffe hématopoïétique allogénique



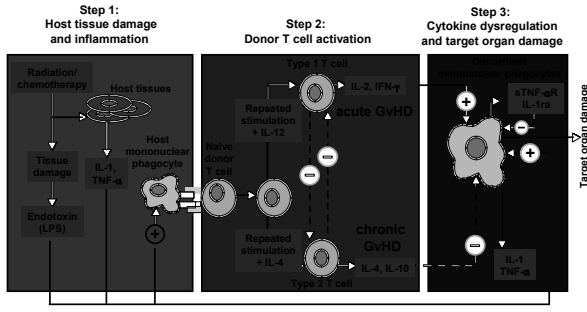
2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

La maladie du Greffon contre l'Hôte

- Forme aiguë et chronique
- Responsable d'une mortalité (15 à >de 50%) et morbidité (GvH chronique++) importante
- Deux modalités de prévention:
 - immunosuppression après greffe
 - déplétion T du greffon
- Traitement des formes sévères de GvH peu efficace et toxique
- Associée à un puissant effet anti-tumorale

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Physiopathologie de la GvH



Krenger W and Ferrara JL. *J Hematother* 1996;5:3-14

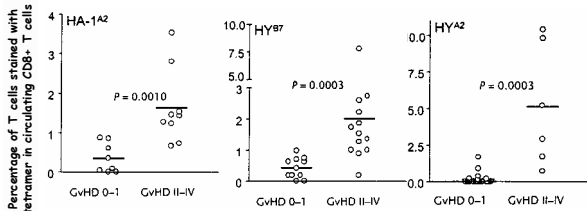
2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

GvH/GvL: Cibles reconnues

- Ag tumoraux ?
- Ag mineurs d'histocompatibilité
 - peptides endogènes dotés d'une variabilité allélique et présentés par les molécules HLA de classe I ou II
 - ségrégation mendélienne et indépendante du CMH
 - restriction d'expression au tissu hématopoïétique possible pour certains Ag ?
 - cibles de lymphocytes T du donneur dont la proportion augmente après greffe
- « Ag » majeurs d'histocompatibilité +/- peptides

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

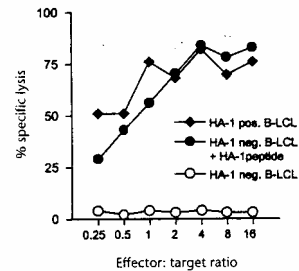
Corrélation entre la fréquence de CTL circulant anti-HA-1 et anti-HY et la GvH



Mutis et al., *Nature Medicine*, 1999

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Analyse fonctionnelle des CTL anti-Ag mineur



Mutis et al. *Nature Medicine*, 1999

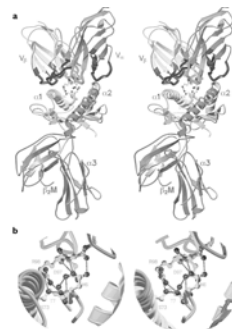
2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

GvH/GvL: Cibles reconnues

- Ag tumoraux ?
- Ag mineurs d'histocompatibilité
 - peptides endogènes dotés d'une variabilité allélique et présentés par les molécules HLA de classe I ou II
 - ségrégation mendélienne et indépendante du CMH
 - restriction d'expression au tissu hématopoïétique possible pour certains Ag ?
 - cibles de lymphocytes T du donneur dont la proportion augmente après greffe
- « Ag » majeurs d'histocompatibilité +/- peptides

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Représentation d'un complexe allogénique peptide/MHC - TCR



BM3.3-pBM1-H-2Kb complex
Reiser et al, *Nature Immunology*, 2000

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Alloréactivité après greffe hématopoïétique: facteurs de «risques»

- Degré d'histocompatibilité
 - complexe majeur d'histocompatibilité
 - Ag mineurs d'histocompatibilité
- Degré de « danger »
 - toxicité du conditionnement et des traitements préalables
 - contexte microbiologique
 - âge du receveur (et du donneur?)

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Prévention de la GvH

- Immunosuppresseurs
 - cyclosporine, FK 506, Rapamycine...
- Déplétion T du greffon
- Déplétion/Anergie des lymphocytes T alloréactifs présent dans le greffon
 - CD25/toxine (Cavazzana-Calvo et al)
 - blocage de la co-stimulation CD28/CD80-CD86 (Guinan et al)
- Cellules mononuclées apoptotiques
- ...

Prévention de la GvL?

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

T-depleted vs non T-depleted grafts: Randomized study

	No.	Acute/ Severe GvH	Chronic GvH	Loss of graft	Relapse	Survival
non-T-depleted graft	35	17%	26%	0%	8%	62%
T-depleted graft	36	2%	4%	25%	29%	49%

Maraninchi et al, Lancet, 1987

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Effet Greffon versus Leucémie dans la Leucémie Myéloïde Chronique

- Rechute après greffe hématopoïétique:
 - greffon allogénique non T-déplété: 10 à 20% de rechute
 - greffon allogénique déplété en lymphocytes T: > 50 % de rechute
 - greffon syngénique: > 70% de rechute
- Infusion de lymphocytes du donneur après rechute:
 - rechute hématologique: > 80% de remission complète

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Traitement de la GvH

- Immunosuppresseurs
 - corticoïdes
 - serum anti-lymphocytaire
 - FK506, mycophenolate mofetil
 - antagonistes de cytokines inflammatoires (Ac, récepteurs solubles)
- Lymphocytes T exprimant un gène suicide
 - thymidine kinase (HS-tk) / Ganciclovir

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

GvH / GvL: Three prerequisites

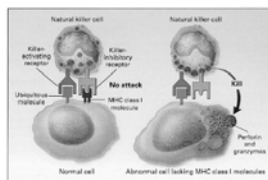
- la présence de cellules immuno-compétentes dans le greffon
- l'incapacité pour l'hôte de rejeter les cellules administrées
- une histo-incompatibilité entre donneur et receveur

Billingham, 1955

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003. Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Intra-familial haplo-identical graft

- Donneur (presque) toujours disponible
- Greffon important: « megadose »
- Déplétion T du greffon
- Conditionnement très immuno- et myelo-suppresseur
- Réactivité allogénique médiée par les cellules Natural Killer: Incompatibilité KIR donneur anti-receveur
 - effet facilitant sur la prise de greffe
 - effet GvL (dans les LAM++)
 - pas de GvH



Delves, N Engl J Med, 2000

Table 2. Donor-Recipient Pairs With Potential for Donor-Versus-Recipient NK Cell Allorecognition

Transplant No.	Donor	Recipient	Donor KIR Ligand Missing in Recipient
1	A24, B35, Cw6 A24, B62, Cw3*	A24, B35, Cw6 A24, B35, Cw6*	Group 2 HLA-C
2	A2, B35, Cw6 A2, B35, Cw6*	A2, B35, Cw6 A2, B35, Cw6*	HLA-Bw4
3	A3, B35, Cw6 A3, B44, Cw4	A3, B35, Cw6 A3, B44, Cw4	HLA-Bw4
4	A3, B44, Cw4 A3, B35, Cw6	A3, B44, Cw4 A3, B35, Cw6	Group 1 HLA-C

Ruggeri et al, Blood, 1999

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Donor Natural Killer Cell Alloreactivity in Mismatched Hematopoietic Transplants

Table 1. Clinical data and transplantation outcomes in HLA haplotype-mismatched transplants with and without KIR ligand incompatibility in the GVH direction. KIR ligand incompatibility in the GVH direction was defined as absence in recipients of donor class I allele group(s) recognized by KIRs (9-17). Such groups are HLA-C alleles with Asn⁷⁷-Lys⁸⁰, Cw2, 4, 5, 6, and related alleles; HLA-C alleles with Ser⁷⁷-Asn⁸⁰, Cw1, 3, 7, 8, and related alleles; HLA-Bw4 alleles; and HLA-A3/A11. Twenty-six pairs (11 in ALL and 15 in AML) were mismatched for HLA-C groups, 8 (3 in ALL and 5 in AML) were mismatched for HLA-Bw4 group; the HLA-A3/A11 mismatch was never found alone but only in conjunction with HLA-C group mismatches (2 pairs).

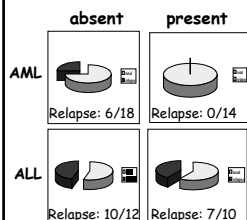
KIR ligand incompatibility in GVH direction	No	Yes
Number of transplants	58	34
Donors displaying antirecipient NK clones	1/58	34/34*
Disease		
ALL	21	14
AML	37	20
Transplantation outcomes		
Rejection	15.5%	0%*
Acute GVHD, ≥ grade II	13.7%	0%*
Probability of relapse at 5 years		
ALL	90%	85%
AML	75%	0%**

P ≤ 0.01; **P < 0.0008 (Z2).

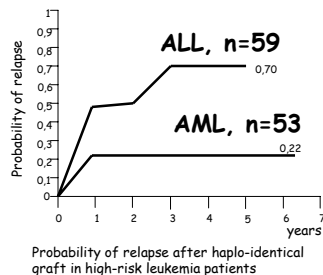
Ruggeri et al, Science, 2002

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Anti-leukemia alloreactivity mediated by Natural Killer cells



Relation between the presence of an anti-recipient NK-mediated alloreactivity and relapse



Probability of relapse after haplo-identical graft in high-risk leukemia patients

Aversa et al, Blood Reviews, 2001

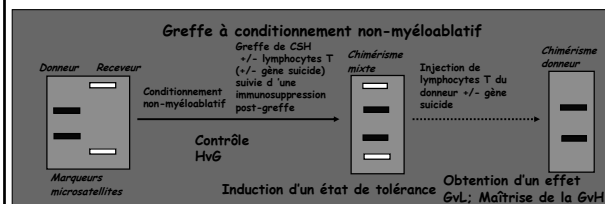
2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Grefe hématoipoétique allogénique: une immunothérapie efficace mais toxique

Destruction et remplacement d'une moelle « malade »

Processus à plusieurs étapes dont l'objectif est d'obtenir:

- un état de tolérance: greffe d'organe
- un chimérisme mixte: maladies génétiques
- un rejet de tumeur: hémopathies malignes, tumeurs solides
- un rejet de l'immunité autologue: auto-immunité



Cancer rénale métastatique: conditionnement non-myéloblastif et greffe hématoipoétique allogénique

- 19 patients, médiane de suivi : 402 jours
- Réponse anti-tumorale : 10/19 (53%)
 - 3 rémissions complètes persistantes,
 - 7 réponses partielles
- 2 décès toxiques, 8 décès par progression de la maladie
- Réponse anti-tumorale :
 - médiane de 129 jours après la greffe
 - lors de l'arrêt de la cyclosporine
 - survenue plus fréquente en présence d'une GvH (80% vs 10% en l'absence de GvH)

Childs et al, N Engl J Med, 2000

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Grefe de rein et de moelle après conditionnement non-myéloblastif

- Patiente de 55 ans
- Myélome et insuffisance rénale terminale
- Conditionnement par Endoxan, SAL et irradiation thymique
- Pas de GvH
- Chimérisme mixte
- Arrêt de l'immunosuppression à J73
- Normalisation de la fonction rénale
- Réponse anti-tumorale

Spitzer et al, Transplantation, 1999

2nd PSU Workshop on Tumour Immunology and Immunotherapy, December 15-20, 2003, Prince of Songkla University, Université Pierre et Marie Curie and Institut Pasteur

Infusion of cytotoxic T cells for the prevention and treatment of Epstein-Barr virus-induced lymphoma in allogeneic transplant recipients

- greffe de CSH T-déplétée
- prophylaxie
- n=39
- 2 à 4 infusion de lymphocytes T polyclonaux anti-EBV (CD4⁺ et CD8⁺) exprimant un gène marqueur (NeoR)
- survie in vivo > 18 semaines (> 38 mois dans des lignées T anti-EBV)
- réduction de 2 à 4 log de la charge virale chez les 6 patients présentant une charge virale importante
- pas de toxicité
- pas de lymphome-EBV
- traitement:
 - 2 lymphomes immunoblastiques EBV-induit
 - 2 réponses complètes et prolongées

Rooney CM et al
Blood 1998, 92:1549-55