

Nota Bene

La présentation suivante a été réalisée par un groupe d'étudiants du parcours Immunotechnologies pour la validation du module BMC532AC. Cette présentation n'a pas été corrigée et peut contenir des erreurs de forme ou de fond.



BMC532: Anticorps monoclonaux

Enjeux actuel des anticorps
monoclonaux en thérapie
humaine

XXX
YYY

Enseignant: Sophie Sibéril

Le 14 Décembre 2006

Sommaire

Introduction

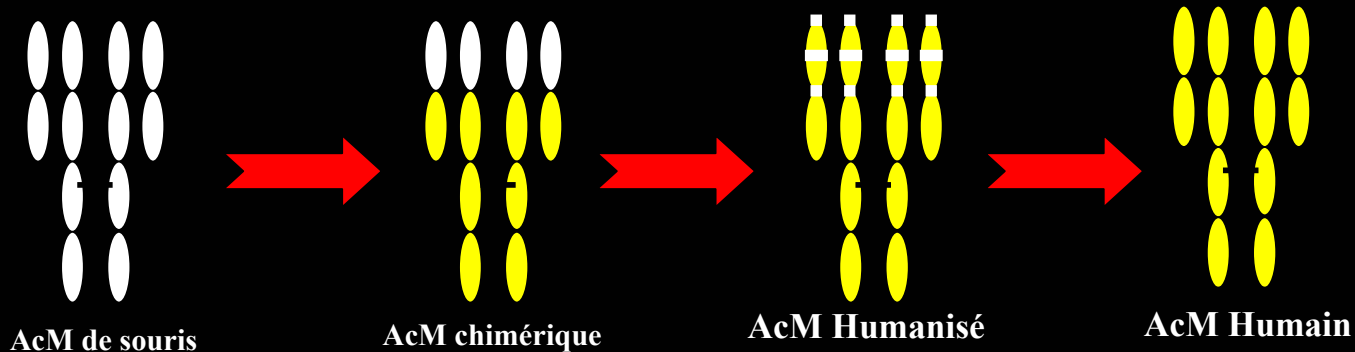
I. Les anticorps humains

II. Optimisation de la demie des anticorps

Conclusion

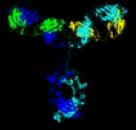
Enjeux

Introduction



Avantages du modèle souris pour l'ingénierie des AcM:

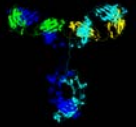
- ❖ Facilité d'immunisation
- ❖ Non tolèrent à la plupart des Antigènes humains
- ❖ Les clones de cellules B sont très stables en hybridome



Les anticorps humains

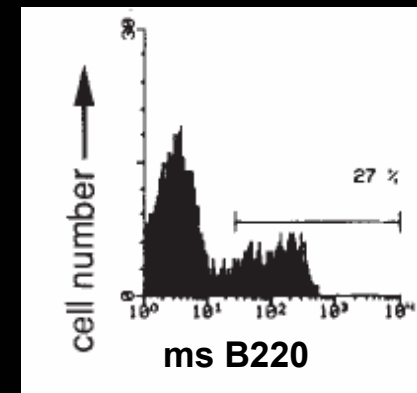
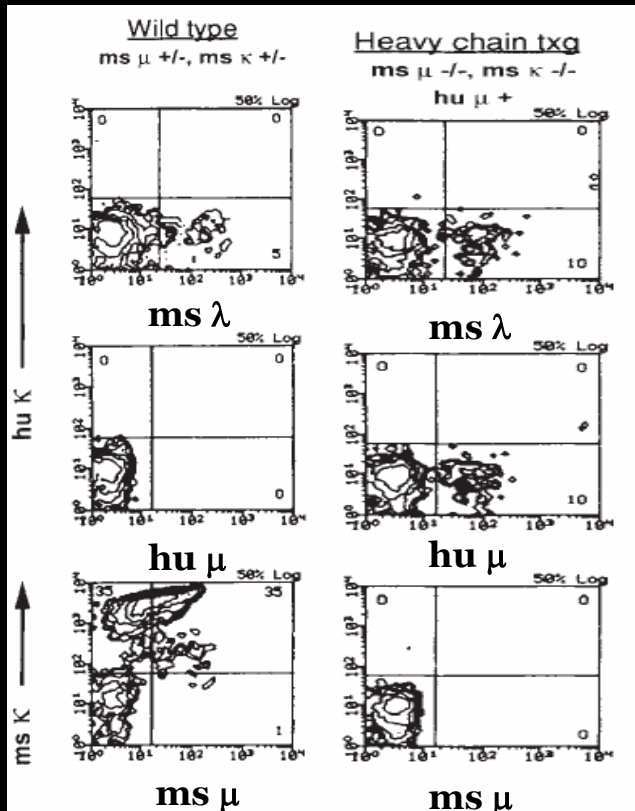
- Antigen-specific human antibodies from mice comprising four distinct genetic modifications





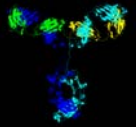
Les chaînes lourdes

Souris HC2 :  HC2



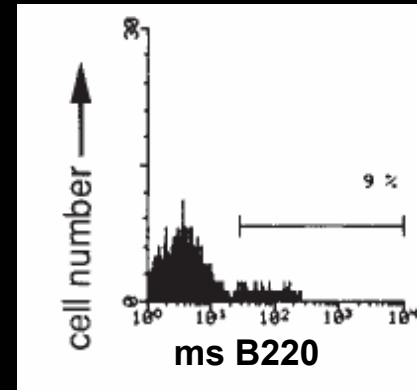
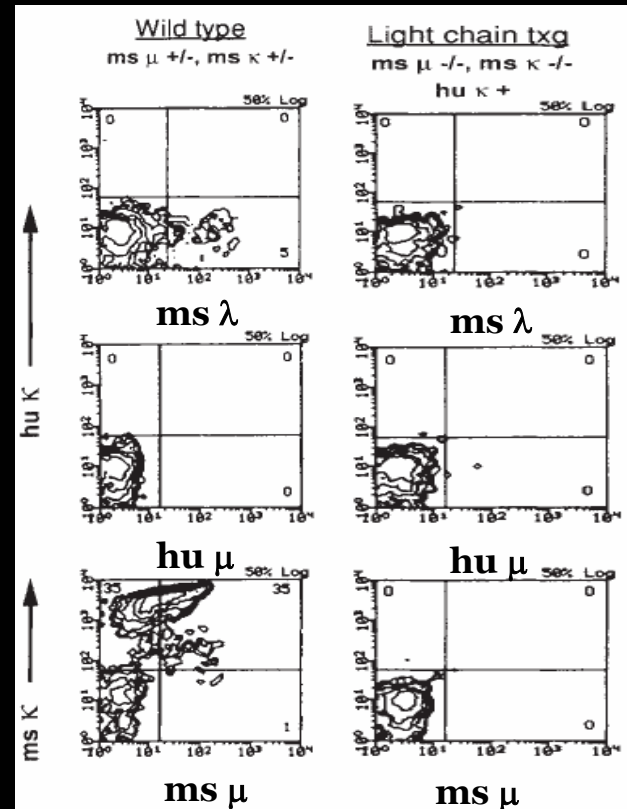
- ➔ Plus d'expression des chaînes lourdes de souris
- ➔ Expression des chaînes lourdes humaines à la surface des cellules B220





Les chaînes légères

Souris KcO4 :



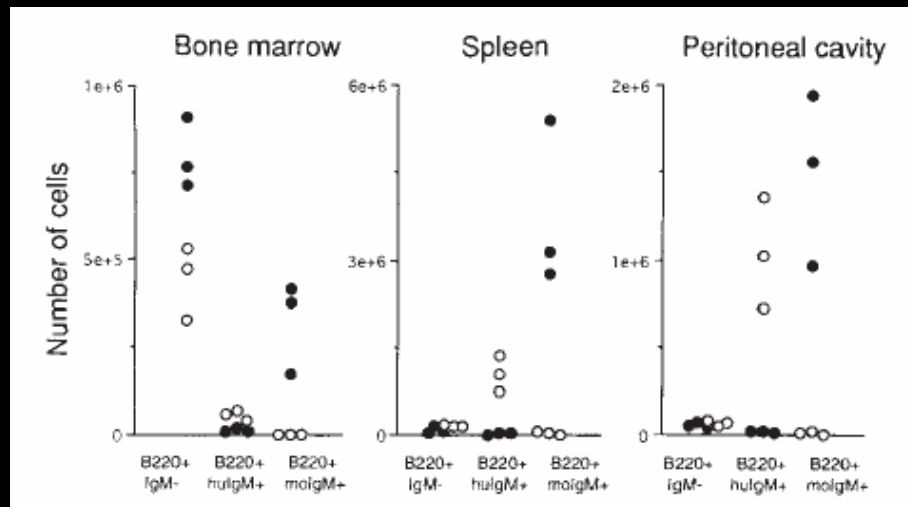
- ➔ Plus de chaînes lourdes et légères de souris
- ➔ Pas de cellules B matures (B220) sans les Chaînes lourdes



Les Anticorps humains

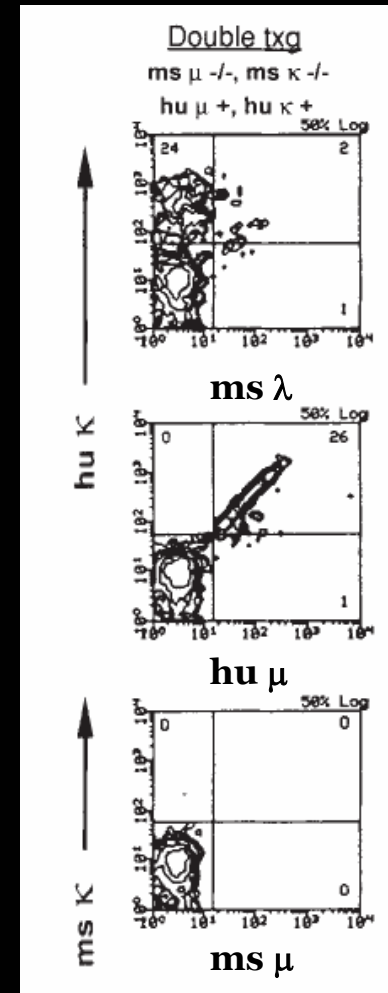


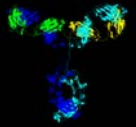
Souris double transgéniques



Expression de cellules B220 doubles transgéniques sécrétrices d'IgM

Expression dans la rate, la moelle osseuse et la cavité péritonéale

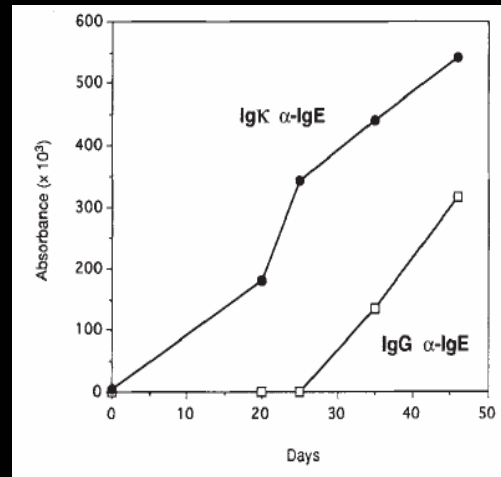




De vraies propriétés

Résultats: réponse contre un antigène humain

Injection de l'antigène IgE κ :

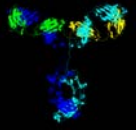


➡ 1^{ère} réponse IgM anti-IgE κ

➡ Réponse tardive secondaire IgG anti-IgE κ

➡ Switch des IgM

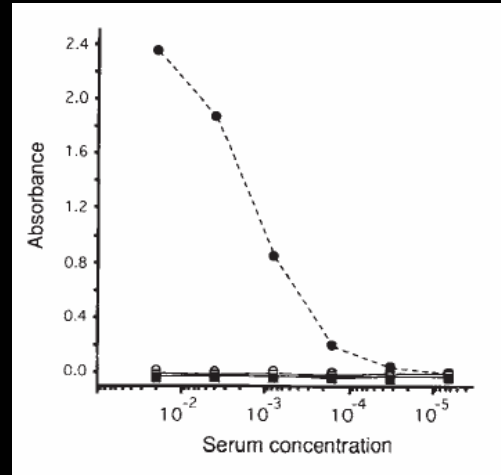




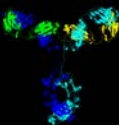
De vraies propriétés

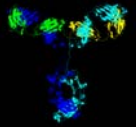
Résultats: réponse anticorps humain contre un antigène humain

Injection de l'antigène CD4 :



 Réponse IgG





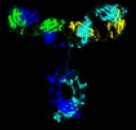
De vraies propriétés

Résultats:

TABLE 2 The variable regions of human γ transcripts in HC2 transgenic mice contain non-germline-encoded nucleotides			
V _H segment	Number of clones	Number of non-germline-encoded nucleotides	Frequency of non-germline-encoded nucleotides (%)
V _H 251	0	—	—
V _H 56P1	19	100	2.1
V _H 51P1	1	5	2.0
V _H 4.21	3	0	0.0

➡ Le switch des Immunoglobulines est accompagné de mutations somatiques

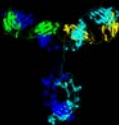


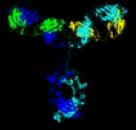


Les Anticorps humains

Pour résumer:

- ➡ Souris capable de produire des anticorps humains contre un antigène humain
 - ➡ Réponse IgM
 - ➡ Réponse secondaire IgG
 - ➡ Bonne interaction Antigène/anticorps
 - ➡ mutations somatiques

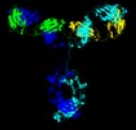




Optimisation de la demie vie des AcM humains

- Engineering Human IgG Antibodies with longer Serum Half-lives in Primates





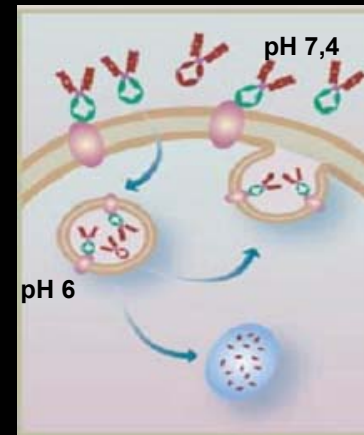
Néonatale Fc récepteur

FcRn :

- Hétérodimère transmembranaire = $\beta 2m$ + chaîne α
- Transport placentaire des IgG
- Rôle dans l'homéostasie des IgG

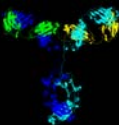
Hypothèse du mécanisme d'action:

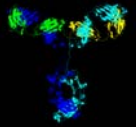
- La liaison FcRn/IgG dépend du pH
pH=6 liaison pH=7 dissociation
- La liaison des IgG au FcRn
 - ↘ dégradation par le lysosome
 - ↗ recyclage à la membrane ???



Redistribution

Dégradation





La problématique

La modification des acides aminés (aa) intervenants dans la liaison IgG / FcRn peut-elle augmenter de la demie vie des IgG in vivo ?

Etude structurale de la liaison FcRn (hu) / Fc (IgG2 hu)

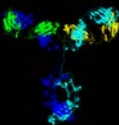
- Position des aa proches de la liaison mais qui n'interviennent pas dans les interactions pH dépendant

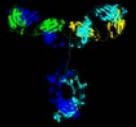
Expérience de mutagenèse dirigées sur des IgG2 humaines

- Sélection des mutants qui ont une forte liaison au hFcRn

Etude pharmacocinétique des IgG2 mutées

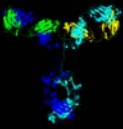
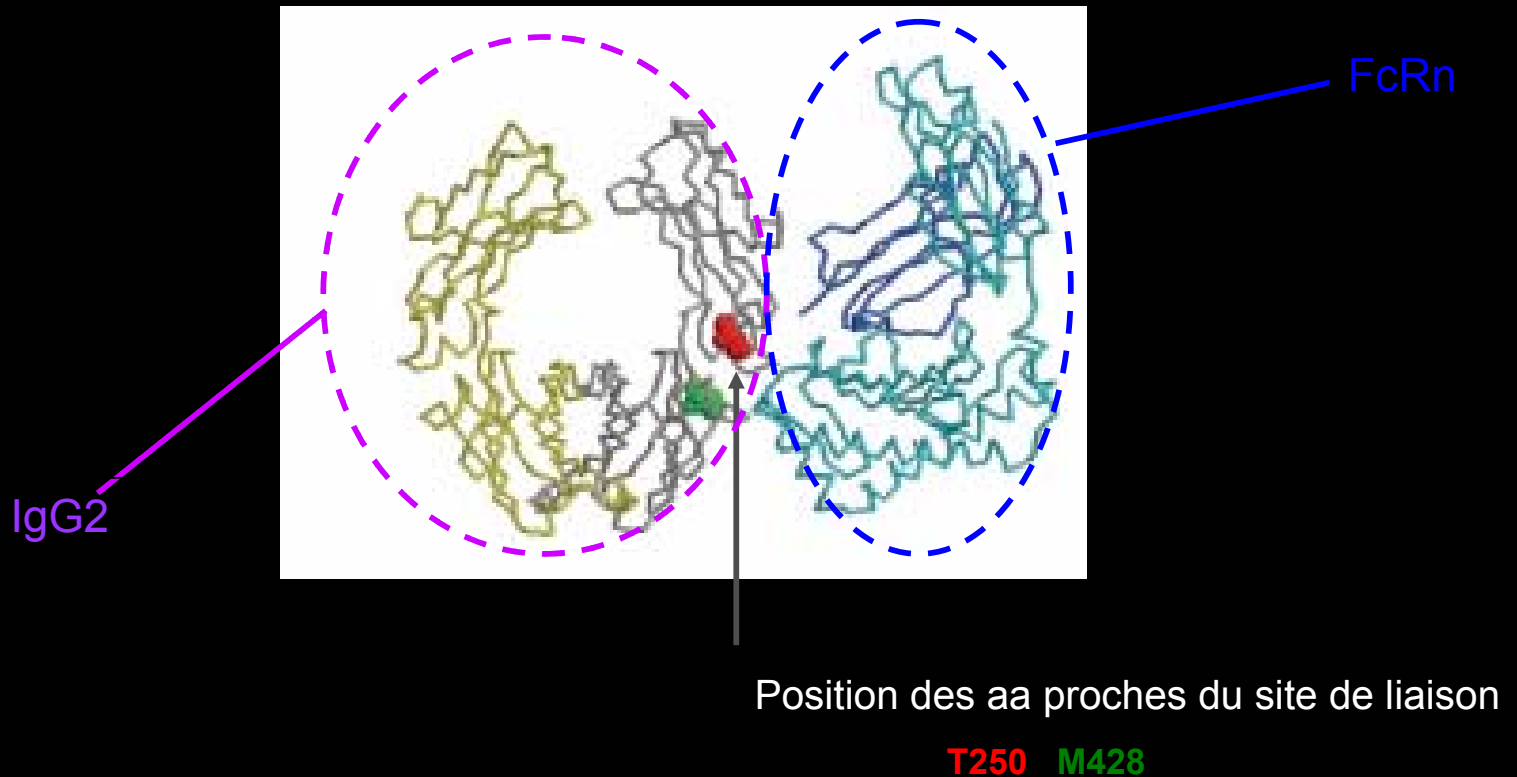
- Evaluation de la biodisponibilité des Ac et détermination de la demie-vie

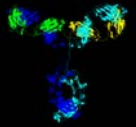




Structure cristallographique de la liaison FcRn/IgG2

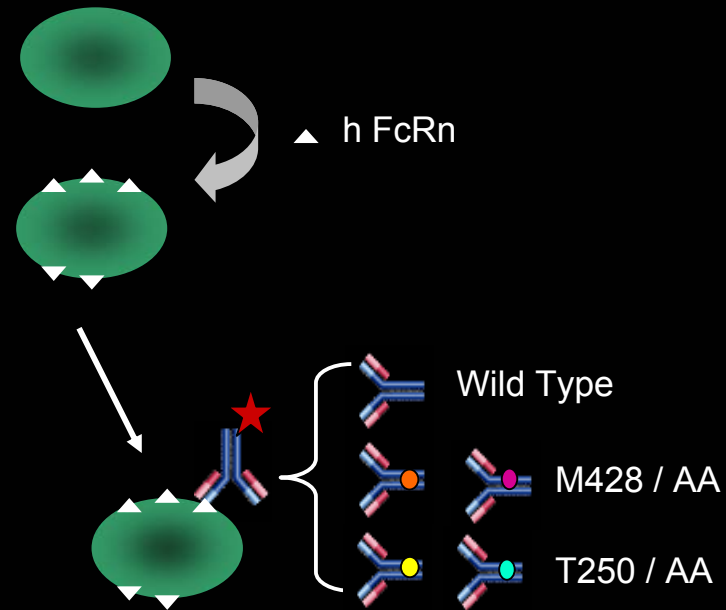
Modèle structural humain du complexe IgG2 Fc / FcRn



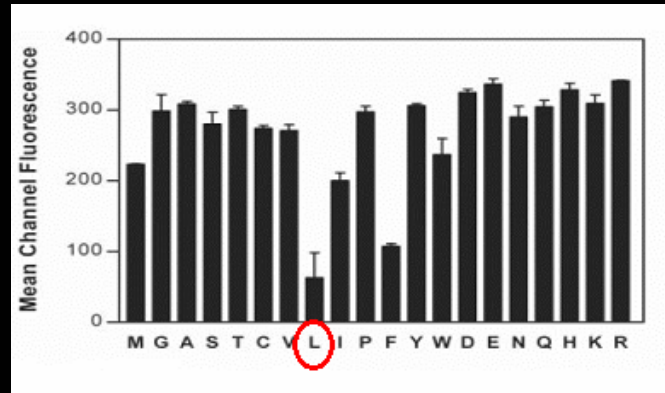


Mutagenèse dirigée et sélection des IgG2 modifiées

Compétitive binding assay

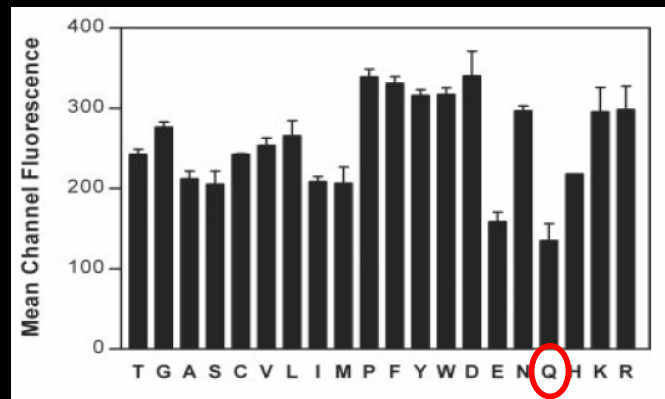


M428



M428L

T250

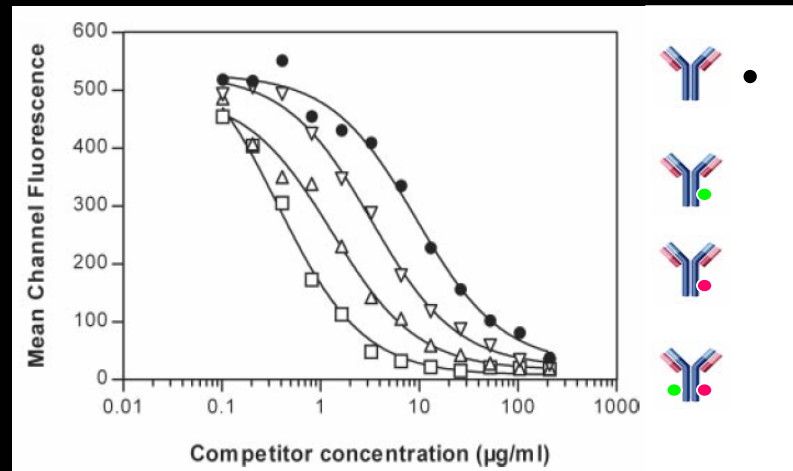


T250Q



Etude de la Liaison Fc/FcRn

Competitive binding assay



➔ Augmentation de la liaison à IC₅₀, pH 6

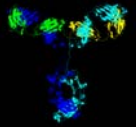
T250Q x 3

M428L x 7

T250Q/ M428L x 28

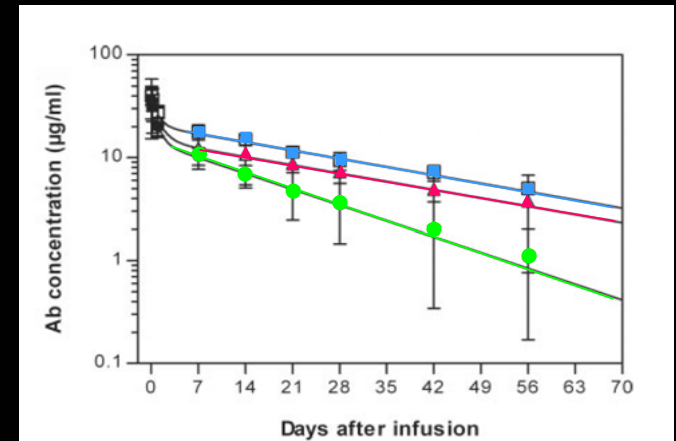
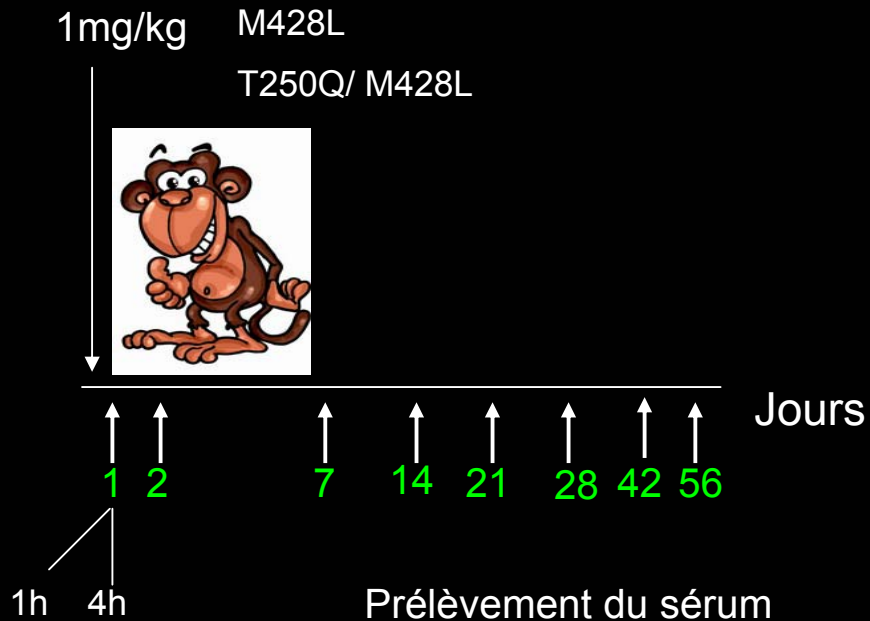
➔ Liaison reste dépendante du pH
pas de liaison à pH 7,5

2 mutants Fc ont une plus forte fixation au FcRn et conservent leurs propriétés interaction pH dépendant



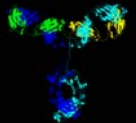
Etude pharmacocinétique chez le primate

Cinétique: concentration des IgG2 sériques au cours du temps



● Wild Type ■ T250Q/ M428L
▲ M428L





Paramètres cinétiques

OST577-IgG ₂ M3	$C_{\max}$	CL	AUC	$t_{1/2}$
	$\mu\text{g/ml}$	ml/h/kg	$\text{h}\cdot\mu\text{g/ml}$	h
WT	36.7 ± 12.8	0.144 ± 0.047	7710 ± 3110	351 ± 121
M428L	36.5 ± 20.1	$0.0811 \pm 0.0384^*$	$15200 \pm 8700^*$	642 ± 205
T250Q/M428L	39.9 ± 6.8	$0.0514 \pm 0.0075^*$	$19800 \pm 2900^*$	$652 \pm 28^*$

C_{max}: distribution similaire dans la circulation

Clearance: unité de volume du sérum(+Ac) épuré par unité de temps

↘ M428L 1,8 x moins

↘↘ T250Q/M428L 2,8 x moins

} / WT

AUC: aire sous la courbe représente la biodisponibilité

↗ M428L 2 x plus

↗↗ T250Q/M428L 2,6 x plus

} / WT

T_{1/2}: temps de demie élimination

M428L 1,8 x plus

↗ T250Q/M428L 1,9 x plus

} / WT



Pour résumer:

➔ Les modifications Fc (T250/M428L) augmentent la durée de vie des IgG2 in vivo

➤ Fixation au FcRn

Conservation de la fixation pH dépendante

Pas ➤ de l'immunogénicité

➔ Un intérêt clinique:

➤ Fréquence d'administration

➤ Coût du traitement

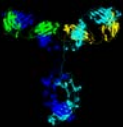
➔ Est ce que l'optimisation de la demie vie des AcM:

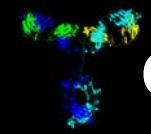
Pas de conséquence sur efficacité de AcM (fonctions effectrices)?

Possibles sur les autres classes IgG

➔ Possibilité de diminuer la demie vie des AcM

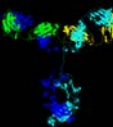
Radio immunothérapie

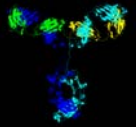




Optimisation des Ac humains et enjeux thérapeutique

- Réductions des réponses immunes dirigées contre ces anticorps monoclonaux
- La technologie de l'ADN recombinant permet d'envisager de nouvelles stratégies
 - Obtention d'Ig humaines possédant les propriétés recherchées
 - Réduction de la fréquence d'administration en jouant sur leurs demi-vie (avantage pour le patient)
 - Optimisation des fonctions effectrices pour augmenter le potentiel des AcM Thérapeutiques (ADCC ou CDC contre les tumeurs)
- Traitement de diverses maladies cancéreuses et inflammatoires

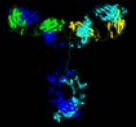




Les AcM humains Un enjeux pour les industriels

Produits	Type AcM	Indications	Laboratoire	Phase
Humira	Anti-TNF/ human	RA	CAT/Abott	FDA, AMM
Vectibix	Anti-EGFR/ human	CCR	Amgen/Agenix	FDA, AMM
AGM 162	Anti-RANKL/ human	Ostéoporose	Amgen	Phase III
Hu- Max CD4	Anti-CD4/human	Lymphome	GenMab/Serono	Phase III
MDX-010	Anti-CTLA4/human	Melanone	Medarex/BMS	Phase III





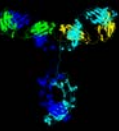
Impact thérapeutique: exemple d'un Ac humain

HuMax-CD4

Dans le traitement des lymphomes

Ex: utilisation dans l'angioimmunoblastome des cellules T

- Les patients traités avec l'AcM HuMax-CD4 voient leur taux de CD4 diminué
- Élargissement de la moelle osseuse disparaît





Enjeux actuel des anticorps monoclonaux en thérapie humaine

Merci de votre attention

Réalisé par

Laure Veron
et
Olivier Cena