

Contrôle pharmacologique des lymphocytes T exprimant des récepteurs antigéniques chimériques : rôle du dasatinib

Jérôme Paillassa

Les lymphocytes T exprimant des récepteurs antigéniques chimériques (CAR-T cells) anti-CD19 constituent une révolution thérapeutique dans les leucémies aigües lymphoblastiques B (LAL-B) et les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL) [1]. Le syndrome de relargage cytokinique (CRS) et le syndrome d'encéphalopathie lié aux CAR-T cells (CRES) représentent ses deux toxicités majeures [2]. Le tocilizumab (anticorps monoclonal contre le récepteur de l'interleukine 6 [IL-6R]) et les corticoïdes à forte dose sont efficaces essentiellement dans le traitement du CRS, moins dans celui du CRES. Les techniques d'intégration de gènes suicide visant à inactiver les CAR-T cells afin d'en limiter la toxicité sont indisponibles en pratique clinique actuelle, et le caractère irréversible de leur action risque de diminuer l'efficacité des CAR-T [3]. Le dasatinib est un inhibiteur de tyrosine kinase de deuxième génération utilisé dans la leucémie myéloïde chronique et les LAL-B à chromosome Philadelphie. Il a également une action inhibitrice sur les kinases proximales de la voie du TCR telles que Src, Fyn et Lck. Étant donné les similarités, en termes de transduction, du signal intracellulaire entre la voie du TCR et la voie du CAR [4], une équipe de Stanford a récemment publié dans *Blood Advances* un travail de recherche testant la capacité du dasatinib à inhiber la fonction des CAR-T cells [5].

Deux types de CAR-T cells anti-CD19 ont été fabriqués : l'une avec comme

co-signal CD28 (CD19.28ζ) et l'autre avec 4-1BB (CD19.BBζ). Le mode de transfection était rétroviral. Les expériences ont été réalisées *in vitro*, dans des cocultures avec des cellules cibles Nalm6-GL en présence ou non de dasatinib, et *in vivo*, dans des expériences de xénotransplantation (cellules Nalm6-GL) chez la souris NSG gavée ou non par dasatinib.

Les expériences de coculture ont montré une inhibition de l'activation, de la prolifération et des fonctions des CAR-T cells (CD19.BBζ et CD19.28ζ) par le dasatinib (production de cytokines, dégranulation et lyse tumorale). Cette inhibition était dose-dépendante et réversible dans les heures suivant le retrait du dasatinib. Le dasatinib a inhibé la phosphorylation des protéines du signalosome en aval du CAR (Lck, CD3ζ, ERK1/2) après une stimulation des CAR-T cells. Dans les expériences de xénotransplantation, des souris NSG ont reçu l'administration de CAR-T cells CD19.BBζ quatre jours après la greffe de cellules cibles CD19⁺ Nalm6-GL. Le traitement par dasatinib de ces souris a permis l'inhibition des fonctions des CAR-T cells, comme en témoignent l'absence de toxicité (perte de poids, fatigue et déshydratation des souris) et la progression tumorale. L'administration de dasatinib chez les souris, sept jours après l'injection des CAR-T cells, a permis la reprise de la progression tumorale. À l'inverse, l'arrêt du dasatinib après sept jours de traitement chez des souris ayant reçu des CAR-T cells a permis une reprise de la réponse antitumorale, soulignant la réversibilité de l'action du dasatinib sur les

CAR-T cells. Par ailleurs, les souris traitées par dasatinib avaient moins de CAR-T cells circulant que les souris non traitées par dasatinib, attestant d'un effet inhibiteur du dasatinib sur l'expansion *in vivo* des CAR-T cells. Enfin, le traitement par dasatinib a fortement diminué la concentration en cytokines pro-inflammatoires (telles que l'IL-6, l'IL-1β et l'IFN-γ, élevées dans le CRS et le CRES) chez les souris ayant reçu les CAR-T cells.

Ces données montrent que le dasatinib inhibe de manière réversible l'activation, la prolifération et les grandes fonctions des CAR-T cells (cytotoxicité, production de cytokines), conduisant à une inhibition de l'effet antitumoral et de la toxicité des CAR-T cells anti-CD19. Le dasatinib pourrait être testé en clinique pour traiter les CRS ou CRES sévères lors d'un traitement par CAR-T cells.]

Références

- [1] Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol* 2019 ; 20 : 31-42.
- [2] Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood* 2016 ; 127 : 3321-30.
- [3] Diaconu I, Ballard B, Zhang M, et al. Inducible Caspase-9 Selectively Modulates the Toxicities of CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells. *Mol Ther* 2017 ; 25 : 580-92.
- [4] Salter AI, Ivey RG, Kennedy JJ, et al. Phosphoproteomic analysis of chimeric antigen receptor signaling reveals kinetic and quantitative differences that affect cell function. *Sci Signal* 2018 ; 11 : eaat6753.
- [5] Weber EW, Lynn RC, Sotillo E, et al. Pharmacologic control of CAR-T cell function using dasatinib. *Blood Adv* 2019 ; 3 : 711-7.