

Anticorps bispécifiques : quel avenir ?

André Pèlegrin et Bruno Robert

IRCM, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier, Montpellier, F-34298, France ;
INSERM, U896, Montpellier, F-34298, France ; Université Montpellier1, Montpellier, F-34298,
France ; CRLC Val d'Aurelle Paul Lamarque, Montpellier, F-34298, France;

Téléphone : +33 4 67 61 30 32; Fax: +33 4 67 61 37 87 ; E-mail: andre.pelegrin@inserm.fr

Introduction

Les anticorps monoclonaux (AcM) sont des protéines bivalentes et bifonctionnelles qui se fixent à leurs cibles (virus, bactéries, protéines, cellules, ...) et qui peuvent générer un contact entre leurs cibles (cellules tumorales, par exemple) et des cellules exprimant les récepteurs des fragments Fc. Avec la génération d'anticorps bispécifiques (AcBs), on étend cette capacité de bifonctionnalité : (i) vers des cellules n'exprimant pas les récepteurs au Fc, en particulier, les cellules T cytotoxiques, très importantes en immunothérapie des cancers ; (ii) avec la stimulation de ces cellules contre des cellules tumorales exprimant des antigènes cibles intrinsèquement « inerte » comme l'antigène carcinoembryonnaire (CEA) ; (iii) à d'autres domaines tels que le ciblage en 2 temps pour la radioimmunothérapie ou le radioimmunodiagnostic, et le co-ciblage d'antigènes associés aux tumeurs.

Les formats d'anticorps bispécifiques

De nombreux formats ont été développés depuis l'avènement des anticorps bispécifiques en raison des contraintes de qualité et de quantité. Si l'AcBs doit être une molécule efficace, il doit également pouvoir être produit et purifié en quantités suffisantes pour des applications cliniques [1].

La première stratégie pour créer des AcBs a consisté à fusionner les 2 hybridomes produisant les AcM correspondant aux 2 spécificités visées [2]. Cette stratégie présentait un défi technique important puisque l'appariement aléatoire des chaînes lourdes et légères des

AcM originaux génèrent une dizaine d'anticorps différents et que la purification de l'anticorps d'intérêt, qui ne représentait que 10 % des anticorps totaux, était très difficile [1]. L'avantage de ces AcBs produits par quadroma était la présence de la partie Fc qui en faisait des molécules « trispécifiques » avec des avantages (purification, pharmacocinétique, ADCC) et des inconvénients potentiels [1].

La liaison de 2 Fab' par un lien thioether, initialement décrite par Glenn [3], a permis de préparer de nombreux anticorps bispécifiques évalués en pré-clinique et lors d'études cliniques. Si cette technologie permet de préparer des molécules efficaces avec un degré de pureté compatible avec un usage clinique, les nombreuses étapes de purification et les rendements ne sont pas compatibles avec une activité commerciale.

Depuis de nombreuses années, la production d'AcBs recombinants par ingénierie génétique a été présentée comme la solution à tous les problèmes de production, de formats, d'immunogénicité des AcBs. Cependant, ce n'est que très récemment que ces techniques ont produits les molécules escomptées entraînant une renaissance du domaine et l'entrée des AcBs recombinants en clinique [4-6]. Si les formats des constructions envisageables sont théoriquement quasiment illimités, les molécules produites sont limitées par les contraintes de structures tridimensionnelles. Dans ce cadre, il faut mentionner l'intérêt des anticorps de camélidés dont le domaine variable monocaténaire (VHH) est plus facile à manipuler que les scFv bi-caténaire [7] et celui des « Tribodies » utilisant les régions naturelles de dimérisation des anticorps [8]. Récemment, le développement et la production d'AcBs bivalents et trifonctionnels (DVD-Ig) très proches du format des anticorps intacts amplifie les perspectives d'utilisation en clinique des AcBs [9].

Les domaines d'application

Les anticorps bispécifiques anti-cellules tumorales/anti-CD3 sont les premiers à avoir été développés [2]. L'idée est de permettre l'attaque des cellules tumorales par les cellules du système immunitaire les plus compétentes, les cellules T. Le choix du CD3 permet de lier

et de stimuler les cellules T indépendamment de leur CMH et de leur spécificité provoquant une réponse T polyclonale [10]. Des anticorps bispécifiques ont également été développés contre les monocytes et les macrophages (CD64 et CD89) et les cellules NK (CD16) [1,4]. Récemment, une étude clinique a montré l'efficacité d'un AcBs recombinant anti-CD19/anti-CD3, constitué de 2 scFv, dans certains lymphomes non-Hodgkiniens [6]. Les résultats sont impressionnants, notamment par la faiblesse des doses entraînant des réponses partielles ou complètes (0,015 à 0,060 mg/m²). Ces résultats devront être confirmés et, il sera intéressant de déterminer si cette stratégie s'avèrera efficace dans les tumeurs solides. Concernant cette stratégie très séduisante qui utilise des AcBs avec un bras agoniste, il ne faut pas négliger la toxicité potentielle.

La radioimmunothérapie utilisant des anticorps directement marqués par différents isotopes radioactifs a fait ses preuves, notamment en oncohématologie. Pour les tumeurs solides, la circulation de l'anticorps radiomarqué engendre souvent une toxicité importante avant qu'une dose efficace ne soit délivrée à la tumeur. Le préciblage, ou ciblage en 2 temps est une des stratégies développées pour remédier à ce problème. Dans ce cas, l'étape de localisation de l'anticorps dans la tumeur est découplée de celle de l'injection de la molécule radioactive à visée diagnostique ou thérapeutique. Si le système avidine-biotine a été utilisé dans ce cadre, les anticorps bispécifiques avec un bras anti-tumeur et un bras anti-haptène représentent l'approche la plus originale et la plus prometteuse en raison, notamment, de la stratégie « Affinity Enhancement System (AES) ». Dans l'AES, l'haptène radiomarqué est bivalent afin de permettre une fixation simultanée à deux molécules d'anticorps bispécifiques préalablement fixées sur une même cellule tumorale. Cela prolonge le temps de résidence de l'haptène radiomarqué dans la tumeur [11]. Le potentiel de l'AES a été démontré dans différentes études cliniques [12]. Afin d'augmenter encore l'efficacité de cette technique, la stratégie actuellement utilise des molécules trivalentes (2 bras anti-tumeur et 1 bras anti-haptène) préparées par la méthode des « Dock-and-Lock » en cours d'évaluation préclinique [13].

Plus récemment, des AcBs ciblant 2 épitopes différents d'un même antigène [14] ou 2 antigènes tumoraux ont été développés dans une stratégie d'augmentation de la spécificité du ciblage et de l'efficacité anti-tumorale. Dans un modèle tumoral exprimant l'antigène carcinoembryonnaire (CEA) et HER2, un AcBs anti-CEA/anti-HER2 a montré une meilleure captation tumorale que les fragments F(ab')₂ des anticorps parentaux [15]. Un AcBs recombinant reliant un scFv anti-HER2 à un scFv anti-HER3 par un lien peptidique de 20 acides aminés a confirmé la nécessité de co-expression des 2 antigènes cibles sur une même cellule pour observer une augmentation de la captation tumorale [16]. Un AcBs anti-EGFR/anti-IGFR est capable de bloquer la fixation de ces 2 ligands et d'inhiber *in vitro* et *in vivo* la prolifération de cellules tumorales avec la même efficacité qu'un cocktail des anticorps parentaux [17]. Un AcBs anti-CD20/anti-CD22 inhibe la prolifération de certaines lignées de lymphome B plus efficacement que les anticorps parentaux et, a priori, avec un mécanisme d'action différent [18].

Ces quelques exemples de ciblage de plusieurs antigènes tumoraux à la surface d'une même cellule tumorale montrent tout l'intérêt de cette stratégie qui devrait se développer dans les prochaines années. Le positionnement de ces AcBs vis-à-vis de cocktails d'anticorps parentaux qui montrent généralement des propriétés anti-tumorales très similaires dépendra de la facilité de production de ces différentes molécules.

Éléments de conclusion provisoire

Les AcBs sont des molécules de ciblage originales permettant de réaliser des stratégies inenvisageables avec les AcM (stimulation de cellules différentes de celles stimulées par les AcM, attaque de cellules tumorales en ciblant plusieurs antigènes tumoraux simultanément, ciblage en 2 temps). Ils constituent certainement la prochaine génération de « molécule dérivée des anticorps ». La variété des formats disponibles engendre autant de pharmacocinétiques qu'il faudra étudier et moduler en fonction des objectifs [5].

Jusqu'à présent, les difficultés des systèmes de synthèse traditionnels des AcBs

(quadroma, synthèse chimique) ont été responsables du développement limité des AcBs. L'ingénierie des anticorps a mis de nombreuses années pour développer des systèmes de synthèse et de production efficaces et adaptés à la clinique. La disponibilité de ces méthodes devrait permettre maintenant un développement plus rapide des AcBs tout en résolvant certains problèmes de propriétés intellectuelles liés aux méthodes conventionnelles.

Les anticorps bispécifiques ne sont donc pas encore d'un usage clinique quotidien. La définition de leurs fenêtres thérapeutiques viendra des études cliniques en cours. Si l'on se réfère à l'histoire récente des AcMs, l'avènement des AcBs pourrait être proche.

REFERENCES

1. Kufer P, Lutterbüse R, Baeuerle PA. A revival of bispecific antibodies. *Trends Biotechnol* 2004; 22: 238-44.
2. Staerz UD, Kanagawa O, Bevan MJ. Hybrid antibodies can target sites for attack by T cells. *Nature* 1985; 314: 628-31.
3. Glennie MJ, McBride HM, Worth AT, Stevenson GT. Preparation and performance of bispecific F(ab' gamma)2 antibody containing thioether-linked Fab' gamma fragments. *J Immunol* 1987; 139: 2367-75.
4. Behar G, Sibérl S, Groulet A, et al. Isolation and characterization of anti-Fc gammaRIII (CD16) llama single-domain antibodies that activate natural killer cells. *Protein Eng Des Sel* 2008; 21: 1-10.
5. Müller D, Kontermann RE. Recombinant bispecific antibodies for cellular cancer immunotherapy. *Curr Opin Mol Ther* 2007; 9: 319-26.
6. Bargou R, Leo E, Zugmaier G, et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science* 2008; 321: 974-7.
7. Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, et al. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* 1993; 363: 446-8.
8. Willems A, Schoonooghe S, Eeckhout D, et al. CD3 x CD28 cross-interacting bispecific antibodies improve tumor cell dependent T-cell activation. *Cancer Immunol Immunother* 2005; 54: 1059-71.
9. Wu C, Ying H, Grinnell C, et al. Simultaneous targeting of multiple disease mediators by a dual-variable-domain immunoglobulin. *Nat Biotechnol* 2007; 25: 1290-7.
10. Baeuerle PA, Reinhardt C, Kufer P. BiTE: a new class of antibodies that recruit T-cells. *Drugs of the Future* 2008; 33: 137-147.

11. Le Doussal JM, Martin M, Gautherot E, et al. In vitro and in vivo targeting of radiolabeled monovalent and divalent haptens with dual specificity monoclonal antibody conjugates: enhanced divalent hapten affinity for cell-bound antibody conjugate. *J Nucl Med* 1989; 30: 1358-66.
12. Goldenberg DM, Chatal J, Barbet J, et al. Cancer Imaging and Therapy with Bispecific Antibody Pretargeting. *Update Cancer Ther* 2007; 2: 19-31.
13. Goldenberg DM, Rossi EA, Sharkey RM, et al. Multifunctional antibodies by the Dock-and-Lock method for improved cancer imaging and therapy by pretargeting. *J Nucl Med* 2008; 49: 158-63.
14. Robert B, Dorvillius M, Buchegger F, et al. Tumor targeting with newly designed biparatopic antibodies directed against two different epitopes of the carcinoembryonic antigen (CEA). *Int J Cancer* 1999; 81: 285-91.
15. Dorvillius M, Garambois V, Pourquier D, et al. Targeting of human breast cancer by a bispecific antibody directed against two tumour-associated antigens: ErbB-2 and carcinoembryonic antigen. *Tumour Biol* 23: 337-47.
16. Robinson MK, Hodge KM, Horak E, et al. Targeting ErbB2 and ErbB3 with a bispecific single-chain Fv enhances targeting selectivity and induces a therapeutic effect in vitro. *Br J Cancer* 2008; 99: 1415-25.
17. Lu D, Zhang H, Koo H, et al. A fully human recombinant IgG-like bispecific antibody to both the epidermal growth factor receptor and the insulin-like growth factor receptor for enhanced antitumor activity. *J Biol Chem* 2005; 280: 19665-72.
18. Qu Z, Goldenberg DM, Cardillo TM, et al. Bispecific anti-CD20/22 antibodies inhibit B-cell lymphoma proliferation by a unique mechanism of action. *Blood* 2008; 111: 2211-9.