

Implication des lymphocytes B régulateurs dans la susceptibilité aux effets indésirables auto-immuns de l'immunothérapie anti-cancéreuse

Sarah Soussan, Sophie Sibénil

Centre de recherche des Cordeliers, Inserm UMRS1138, Équipe I3 Inflammation, complément et cancer, Sorbonne Université, Université Paris Cité, Paris, France. sarah.soussan@sorbonne-universite.fr sophie.siberil@sorbonne-universite.fr

► Les molécules de points de contrôle immunitaire (*immune checkpoints*) regroupent un ensemble de récepteurs cellulaires, activateurs ou inhibiteurs, intervenant dans le contrôle du déclenchement, de l'intensité et de la durée de la réponse immunitaire. Elles permettent notamment d'empêcher une activation excessive du système immunitaire pouvant conduire à l'émergence de maladies auto-immunes [1, 2]. Dans un contexte tumoral, la présence de récepteurs inhibiteurs à la surface des cellules immunitaires et de leurs ligands à la surface des cellules tumorales contribue à l'échappement des cellules cancéreuses à leur élimination par le système immunitaire. Des anticorps monoclonaux (AcM) ciblant ces molécules – principalement la molécule CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte antigen-4*), le récepteur PD-1 (*programmed cell death 1*) et ses ligands, PD-L1 et PD-L2 – sont donc couramment utilisés en mono-thérapie ou en bi-thérapie afin de favoriser la réponse immunitaire anti-tumorale en levant l'inhibition des lymphocytes induite par le microenvironnement tumoral [3].

L'immunothérapie anti-cancéreuse a considérablement amélioré le pronostic de certains cancers depuis une quinzaine d'années. Cependant, l'élargissement de son utilisation à différents types de cancers a fait émerger de nouveaux enjeux. Outre l'hétérogénéité de réponse au traitement entre les patients, la survenue d'effets

indésirables spécifiquement associés à ce type de traitement complique la prise en charge des patients. En effet, des effets indésirables auto-immuns, moins fréquemment rencontrés dans les traitements anti-cancéreux conventionnels (chimiothérapie, radiothérapie), surviennent chez 30 à 70 % des patients traités par les inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (*immune checkpoint inhibitors*, ICI) [4]. Ils peuvent concerner divers tissus (peau, côlon, rein, glandes endocrines, poumon, muscle, cœur, etc), de manière précoce ou différée après le début de la thérapie et peuvent être de sévérité variable en fonction de l'organe atteint [5]. Bien que la plupart de ces complications auto-immunes soient résolues par l'administration de médicaments anti-inflammatoires, certaines nécessitent une diminution, voire un arrêt, de l'immunothérapie anti-cancéreuse [4]. Il importe donc d'en comprendre les mécanismes immunologiques pour mieux les prévenir et les traiter.

Les premières études se sont concentrées sur le rôle des lymphocytes T, directement ciblés par les ICI [6]. Or, les résultats de plusieurs études récentes mettent en évidence la contribution importante des lymphocytes B à la réponse des patients au traitement par ICI [7, 8]. Ils suggèrent que ces lymphocytes sont directement ou indirectement modulés par

ces immunothérapies et posent donc la question de leur implication dans les effets indésirables auto-immuns des ICI. Une analyse transcriptomique effectuée sur des échantillons de sang provenant de patients présentant un mélanome à un stade avancé et traités par AcM anti-CTLA-4 montre d'ailleurs que l'expression de plusieurs gènes d'immunoglobulines augmente au cours du traitement, et que cette augmentation est plus importante dans le groupe de patients présentant des complications auto-immunes touchant le système digestif [9]. Les lymphocytes B peuvent contribuer à ces effets indésirables par la production d'anticorps, mais aussi par leur aptitude à présenter des auto-antigènes aux lymphocytes T ou à produire des cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 6 (IL-6) ou le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (*granulocyte and macrophage colony-stimulating factor*, GM-CSF), toutes ces fonctions étant susceptibles de potentialiser les réponses pathogéniques des lymphocytes T auto-réactifs [10, 11]. Plusieurs études ont également montré un rôle primordial de certaines sous-populations de lymphocytes B régulateurs (B_{reg}) dans le contrôle de l'auto-immunité. Les lymphocytes B_{reg} constituent une population hétérogène, caractérisée par l'expression de différentes molécules inhibitrices

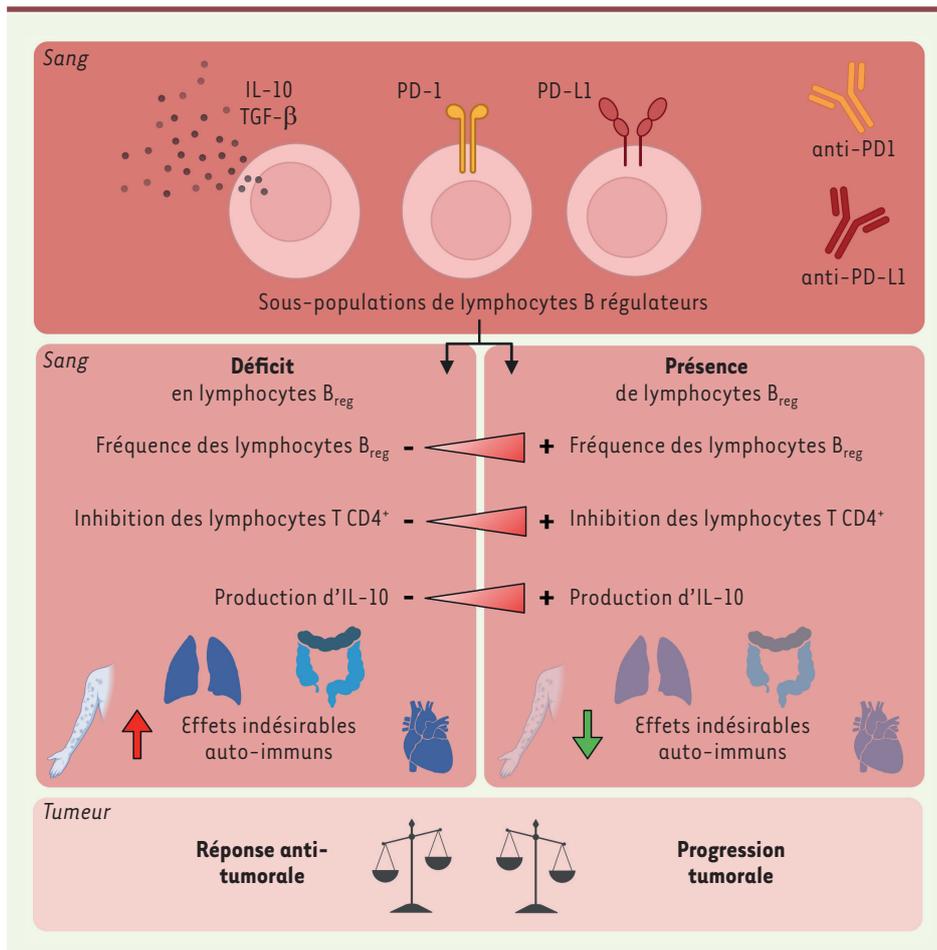


Figure 1. Implication d'un déficit préexistant des lymphocytes B régulateurs dans la survenue d'effets indésirables auto-immuns de l'immunothérapie anti-cancéreuse.

Différentes sous-populations de lymphocytes B régulateurs (B_{reg}) ont été identifiées dans le sang de patients présentant un cancer. Les lymphocytes B_{reg} sont définis par l'expression de molécules aux propriétés immunosuppressives telles que l'IL-10, le TGF- β , PD-1 ou PD-L1. À la différence des patients ne développant pas d'auto-immunité après l'immunothérapie par des anticorps inhibiteurs de points de contrôle immunitaire (ICI), les patients chez lesquels surviennent des effets indésirables auto-immuns graves sont caractérisés par une sous-représentation de certaines sous-populations de lymphocytes B_{reg} avant le traitement. Les lymphocytes B_{reg} de ces patients sont également caractérisés par une altération de leur capacité à produire l'IL-10 et à moduler l'activité des lymphocytes

T CD4⁺. La prévention des effets indésirables auto-immuns des ICI doit prendre en compte l'implication des lymphocytes B_{reg} dans la réponse anti-tumorale des patients à l'immunothérapie. En effet, la présence de ces lymphocytes au sein de la tumeur est généralement associée à une progression tumorale.

(LAG-3 [*lymphocyte activation gene-3*], TIM-1 [*T cell immunoglobulin and mucin domain-1*], PD-1, PD-L1, PD-L2), et ont la capacité de produire des cytokines immuno-régulatrices telles que l'IL-10, le TGF- β (*transforming growth factor- β*) ou l'IL-35 [12, 13]. La présence de ces populations cellulaires régulatrices au sein du microenvironnement tumoral chez les patients est en faveur de l'inhibition du système immunitaire, et est donc généralement associée à un mauvais pronostic [14]. Dans une étude récente, Patel *et al.* ont étudié l'implication de ces différentes sous-populations de lymphocytes B_{reg} dans les effets indésirables auto-immuns des immunothérapies anti-cancéreuses [15].

Des sous-populations de lymphocytes B_{reg} dérégulées avant traitement chez les patients présentant un cancer qui développent des complications auto-immunes des ICI

Les auteurs ont utilisé la cytométrie de masse¹ pour réaliser une analyse à haut débit des différentes sous-populations de lymphocytes B périphériques dans un groupe de 46 patients

¹ Méthode d'analyse de populations cellulaires. Comme la cytométrie en flux, la cytométrie de masse repose sur l'immunomarquage spécifique d'antigènes cellulaires par des anticorps monoclonaux. Toutefois, contrairement à la cytométrie en flux, ces anticorps sont couplés à des isotopes non-radioactifs de métaux lourds (au lieu de fluorochromes), dont la détection se fait par spectrométrie de masse (au lieu de tubes photomultiplicateurs). L'utilisation d'isotopes permet ainsi de s'affranchir des limitations liées à l'autofluorescence ou au chevauchement spectral, et donc de détecter un nombre d'antigènes plus important qu'en cytométrie en flux.

présentant un cancer du poumon et traités par AcM anti-PD-1/PD-L1 (seul ou en combinaison avec de la chimiothérapie). Parmi ces patients, huit ont développé des complications auto-immunes graves. Ces huit patients ont été comparés aux 38 patients sans complication auto-immune ou avec des complications peu sévères résolues par l'administration de médicaments anti-inflammatoires (groupe « sans complication ») et à huit individus sains. Des échantillons de sang ont été prélevés avant le début du traitement chez les 46 patients, et après le premier cycle d'immunothérapie chez 19 patients, afin de suivre l'effet du traitement sur les populations de lymphocytes B_{reg} .



Une analyse bio-informatique des résultats a permis de grouper les lymphocytes B en sous-populations phénotypiquement homogènes. Plusieurs sous-populations de lymphocytes B_{reg}, exprimant des marqueurs généralement associés à une activité immuno-régulatrice (*i.e.*, IL-10, TGF- β , PD-1, PD-L1) ont ainsi pu être détectées dans le sang des patients. Chez les patients développant des complications auto-immunes, plusieurs sous-populations de lymphocytes B_{reg} sont sous-représentées ou absentes avant traitement par rapport aux patients qui n'ont pas ces complications. C'est le cas notamment de sous-populations exprimant fortement PD-L1, PD-1, le TGF- β ou l'IL-10. Il apparaît également que la production d'IL-10 par plusieurs sous-populations de lymphocytes B est diminuée dans le groupe de patients développant des complications auto-immunes. Remarquablement, le traitement induit une augmentation de la fréquence des sous-populations de lymphocytes B_{reg} PD-1^{high} et PD-L1^{high}/TGF- β ^{high} chez les patients sans effets indésirables auto-immuns, alors que ces sous-populations n'augmentent pas chez les patients qui les développent. Ces résultats ont été confirmés dans un autre groupe de patients présentant le même type de cancer et traités avec les mêmes molécules thérapeutiques.

Ces analyses révèlent donc un défaut quantitatif, avant traitement par ICI, de certaines sous-populations de lymphocytes B_{reg} chez les patients qui vont développer des effets indésirables graves du traitement. De plus, l'analyse longitudinale de la cohorte de patients indique que ce défaut n'est pas corrigé par le traitement.

Un défaut fonctionnel des lymphocytes B touchant la production de cytokines chez les patients qui développeront des effets indésirables auto-immuns des ICI

Les auteurs ont réalisé des expériences de culture de lymphocytes B totaux purifiés à partir des échantillons de sang

recueillis chez les patients avant traitement afin d'analyser la production de cytokines par ces cellules. La stimulation des lymphocytes B pendant 40 heures en présence de ligands du TLR9 (*Toll-like receptor 9*) et d'IL-2 a permis d'étudier leur capacité à produire des cytokines pro-inflammatoires (IFN- γ [interféron- γ], IL-6, IL-17, TNF- α [*tumor necrosis factor- α*], IL-2) et immunosuppressives (IL-10). Après stimulation, les lymphocytes B des patients qui développent ultérieurement des complications auto-immunes graves secrètent moins d'IL-10 que ceux des patients sans ces complications et ceux d'individus sains. La production de cytokines pro-inflammatoires, notamment IL-6 et IFN- γ , par les lymphocytes B est également altérée chez les patients avec ces complications.

Afin d'évaluer l'aptitude des lymphocytes B à moduler l'activité de lymphocytes T autologues, des expériences de co-culture (lymphocytes T CD4⁺ + lymphocytes B) ont été réalisées en utilisant des lymphocytes B préalablement activés par des ligands de TLR9. Alors que les lymphocytes B provenant de patients sans complication auto-immune du traitement ou d'individus sains induisent une diminution de la production d'IFN- γ par les lymphocytes T, les lymphocytes B des patients développant des complications auto-immunes sont incapables d'inhiber l'activation des lymphocytes T. En plus du déficit numérique des sous-populations de lymphocytes B_{reg}, il existe donc, chez les patients qui développeront des complications auto-immunes du traitement par ICI, un déficit fonctionnel de ces lymphocytes, comme en témoigne leur moindre capacité à produire des cytokines et à moduler l'activité des lymphocytes T (fonction immuno-régulatrice).

Les lymphocytes B_{reg} également impliqués dans la réponse au traitement par ICI

L'ensemble de ces résultats suggère qu'une abondance de lymphocytes B_{reg}

avant le début du traitement réduit la susceptibilité des patients aux effets indésirables de l'immunothérapie. Cependant, les résultats de plusieurs études cliniques indiquent que ces lymphocytes présents au sein de la tumeur peuvent avoir un impact négatif sur la réponse anti-tumorale au traitement par ICI [14]. Pour les patients présentant un cancer du poumon, Patel *et al.* n'ont pas constaté de différence du nombre total de lymphocytes B_{reg} entre ceux qui répondent favorablement à l'immunothérapie et ceux qui n'y répondent pas. Cependant, ils ont observé une plus grande quantité de la molécule inhibitrice PD-L1 exprimée à la surface des lymphocytes B des patients non répondeurs [15]. De plus, chez des patients présentant un mélanome et traités par immunothérapie (AcM anti-PD-1 ou anti-CTLA-4), les auteurs ont observé une plus forte représentation des lymphocytes B_{reg} produisant de l'IL-10 et exprimant PD-1 chez les patients non répondeurs à l'immunothérapie. Ainsi, malgré des différences notables entre les différents cancers, ces résultats témoignent du lien étroit qui semble exister entre la présence des lymphocytes B_{reg}, la réponse à l'immunothérapie anti-tumorale et les effets indésirables auto-immuns associés à ce traitement.

Perspectives

L'étude de Patel *et al.* apporte de nouvelles connaissances sur les mécanismes immunologiques des effets indésirables auto-immuns de l'immunothérapie anticancéreuse. Elle montre qu'il existe, chez des patients avant leur traitement par ICI, un déficit quantitatif et fonctionnel de certaines sous-populations de lymphocytes B_{reg} caractérisées par l'expression des marqueurs PD-L1, PD-1, et leur production de TGF- β ou d'IL-10. Ces dérégulations sont associées à une susceptibilité à développer des complications auto-immunes graves du traitement. Les lymphocytes B provenant de patients chez lesquels surviendront ces complications présentent une

capacité altérée non seulement à produire des cytokines pro-inflammatoires et immunosuppressives, mais également à moduler les réponses des lymphocytes T, par rapport aux lymphocytes B des patients qui n'auront pas ces complications (Figure 1). Ces résultats soulèvent des questions concernant le rôle des différentes sous-populations de lymphocytes B_{reg} et leurs cibles respectives. L'expression de PD-L1 à la surface de ces lymphocytes leur permet d'interagir avec des lymphocytes T auxiliaires folliculaires exprimant le récepteur PD-1 [16]. Cette interaction induit un contrôle négatif de l'activation des lymphocytes T ainsi que le contrôle de la formation de centres germinatifs, processus essentiel au déclenchement de la réponse immunitaire humorale. Les complications auto-immunes des immunothérapies anti-cancéreuses sont la conséquence d'une perte de la tolérance au soi. L'action des lymphocytes B_{reg} est donc essentielle pour prévenir l'activation de clones de lymphocytes T ou B auto-réactifs, comme en témoignent les résultats de plusieurs études montrant l'association entre des maladies auto-immunes et un déficit quantitatif ou fonctionnel des lymphocytes B_{reg} [13]. L'article de Patel et al. complète les résultats d'études précédentes montrant une association entre des complications auto-immunes endocriniennes, cutanées ou musculaires de l'immunothérapie et la présence d'auto-anticorps dirigés contre les tissus correspondants [17]. De même, d'autres auteurs ont rapporté l'existence d'une sous-population de lymphocytes B CD21^{low}, enrichie en clones auto-réactifs, sur-représentée chez des patients développant des complications auto-immunes de l'immunothérapie anti-cancéreuse, et dont l'augmentation précède et est corrélée avec le développement d'effets indésirables graves [18, 19]. Il existe une forte hétérogénéité phénotypique et fonctionnelle au sein de la population des lymphocytes B, incluant des sous-populations de lymphocytes auto-réactifs et pro-inflammatoires,

mais également des sous-populations immunosuppressives contrôlant la réponse immunitaire. Dans le contexte de l'immunothérapie anti-tumorale, la nécessité de maintenir un équilibre entre la réponse immunitaire souhaitée contre les cellules cancéreuses et la réponse auto-réactive dirigée contre des tissus sains à l'origine d'effets indésirables complique la prise en charge thérapeutique des patients. En effet, de nombreuses études visant à caractériser les antigènes reconnus par les lymphocytes B et par les anticorps intra-tumoraux ont révélé qu'une majorité de ces antigènes sont des auto-antigènes [20]. On peut donc supposer que des auto-antigènes exprimés par les cellules cancéreuses sont également présents dans les tissus sains, et peuvent être la cible de lymphocytes B auto-réactifs. Une meilleure compréhension des mécanismes contrôlant l'équilibre entre les réponses anti-tumorales et auto-réactives des lymphocytes B est donc nécessaire afin de tenter d'éviter les effets indésirables auto-immuns des immunothérapies tout en conservant la réponse anti-tumorale. ♦

Involvement of regulatory B lymphocytes in susceptibility to autoimmune side effects of cancer immunotherapy

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol* 2007 ; 19 : 813-24.
- Wei SC, Duffy CR, Allison JP. Fundamental mechanisms of immune checkpoint blockade therapy. *Cancer Discov* 2018 ; 8 : 1069-86.
- Sharma P, Allison JP. Dissecting the mechanisms of immune checkpoint therapy. *Nat Rev Immunol* 2020 ; 20 : 75-6.
- Boutros C, Tarhini A, Routier E, et al. Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination. *Nat Rev Clin Oncol* 2016 ; 13 : 473-86.
- Johnson DB, Nebhan CA, Moslehi JJ, et al. Immune-checkpoint inhibitors: long-term implications of toxicity. *Nat Rev Clin Oncol* 2022 ; 19 : 254-67.
- Ramos-Casals M, Brahmer JR, Callahan MK, et al. Immune-related adverse events of checkpoint inhibitors. *Nat Rev Dis Primers* 2020 ; 6 : 38.
- Meylan M, Petitprez F, Becht E, et al. Tertiary lymphoid structures generate and propagate anti-tumor

antibody-producing plasma cells in renal cell cancer. *Immunity* 2022 ; 55 : 527-41.e5.

- Mazor RD, Nathan N, Gilboa A, et al. Tumor-reactive antibodies evolve from non-binding and autoreactive precursors. *Cell* 2022 ; 185 : 1208-22.e21.
- Shahabi V, Berman D, Chasalow SD, et al. Gene expression profiling of whole blood in ipilimumab-treated patients for identification of potential biomarkers of immune-related gastrointestinal adverse events. *J Transl Med* 2013 ; 11 : 75.
- Barr TA, Shen P, Brown S, et al. B cell depletion therapy ameliorates autoimmune disease through ablation of IL-6-producing B cells. *J Exp Med* 2012 ; 209 : 1001-10.
- Li R, Rezk A, Miyazaki Y, et al. Proinflammatory GM-CSF-producing B cells in multiple sclerosis and B cell depletion therapy. *Sci Transl Med* 2015 ; 7 : 310ra166-310ra166.
- Oleinika K, Mauri C, Salama AD. Effector and regulatory B cells in immune-mediated kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2019 ; 15 : 11-26.
- Catalán D, Mansilla MA, Ferrier A, et al. Immunosuppressive mechanisms of regulatory B cells. *Front Immunol* 2021 ; 12 : 611795.
- Fridman WH, Meylan M, Petitprez F, et al. B cells and tertiary lymphoid structures as determinants of tumour immune contexture and clinical outcome. *Nat Rev Clin Oncol* 2022 ; 19 : 441-57.
- Patel AJ, Willmore ZN, Khan N, et al. Regulatory B cell repertoire defects predispose lung cancer patients to immune-related toxicity following checkpoint blockade. *Nat Commun* 2022 ; 13 : 3148.
- Khan AR, Hams E, Floudas A, et al. PD-L1hi B cells are critical regulators of humoral immunity. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 5997.
- Ghosh N, Chan KK, Jivanelli B, et al. Autoantibodies in patients with immune-related adverse events from checkpoint inhibitors: A systematic literature review. *J Clin Rheumatol* 2022 ; 28 : e498-505.
- Das R, Bar N, Ferreira M, et al. Early B cell changes predict autoimmunity following combination immune checkpoint blockade. *J Clin Invest* 2018 ; 128 : 715-20.
- Isnardi I, Ng Y-S, Menard L, et al. Complement receptor 2/CD21^{hi} human naive B cells contain mostly autoreactive unresponsive clones. *Blood* 2010 ; 115 : 11.
- Fridman WH, Sibéris S, Pupier G, et al. Activation of B cells in tertiary lymphoid structures in cancer: Anti-tumor or anti-self? *Semin Immunol* 2023 ; 65 : 101703.



m/s
médecine/sciences

**Abonnez-vous
à médecine/sciences**

**Bulletin d'abonnement page 194
dans ce numéro de m/s**