

Leucémie lymphoïde chronique

Chronic lymphoid leukemia

M.C. Béné*, S. Choquet**

RÉSUMÉ

Les études biologiques présentées à l'EHA étaient essentiellement focalisées sur le microenvironnement des cellules de LLC, avec des explorations en profondeur de la cytotoxicité, potentiellement applicables en thérapeutique. En clinique, les études se sont concentrées sur les inhibiteurs de la Bruton tyrosine kinase (ibrutinib et acalabrutinib), l'inhibiteur de BCL2 vénétoclax, en association ou non avec un anticorps monoclonal anti-CD20. Sans pouvoir ressortir un avantage décisif pour un traitement ou un autre, les résultats n'en sont pas moins spectaculaires, améliorant un peu plus le pronostic de la LLC.

Mots-clés : Ibrutinib – Acalabrutinib – Vénétoclax – Rituximab – Obinutuzumab – LLC.

SUMMARY

Biological studies presented at the EHA focused on the microenvironment of CLL cells, especially in mechanisms controlling tumor cytotoxicity, potentially applicable for treatment.

Clinically, the studies presented focused on Bruton tyrosine kinase inhibitors (ibrutinib and acalabrutinib) and the BCL2 inhibitor venetoclax, in combination or not with an anti-CD20 monoclonal antibody. Without being able to bring out a decisive advantage for one treatment or another, the results are no less spectacular, improving a little more the prognosis of CLL.

Keywords: Ibrutinib – Acalabrutinib – Venetoclax – Rituximab – Obinutuzumab – CLL.

Focus biologique

Plusieurs sessions du congrès de l'EHA 2022 étaient consacrées à des aspects novateurs de la recherche sur la physiopathologie de la leucémie lymphoïde chronique (LLC). Cinq coups de projecteurs sont résumés ici.

Toll-like récepteurs et microenvironnement

Les *toll-like receptors* (TLR) sont des récepteurs de l'immunité innée, très conservés dans l'évolution, capables de reconnaître des motifs bactériens ou viraux, y compris des îlots non méthylés d'acides nucléiques riches en guanine et cytosine (*CpG islands*) qui peuvent être relargués par les cellules apoptotiques. Les TLR sont présents sur les cellules dendritiques, les macrophages et également sur les lymphocytes T et B. La majorité d'entre eux recrutent la molécule MyD88 comme adaptateur après avoir reconnu leur ligand pour induire l'activation de la voie de NF-κB via les kinases IRAK. Le travail présenté par C. Martines (*abstr. S135*) avait pour objectif d'évaluer les effets d'un inhibiteur d'IRAK4 sur la prolifération de cellules de LLC. Deux modèles ont été utilisés. Le premier a consisté en l'administration de

cellules leucémiques de souris transgéniques Eμ-TCL1¹ à des souris immunocompétentes en présence ou non d'inhibiteur d'IRAK4. On constate une diminution de la vitesse de développement de la LLC chez les souris receveuses, significative à J48, et un quasi doublement de leur survie. Le deuxième modèle a utilisé la même approche, mais cette fois en administrant des cellules de lignées issues de patients atteints d'un syndrome de Richter à des souris immunodéficientes toujours en présence d'inhibiteur d'IRAK4. On constate alors une diminution significative du nombre de cellules leucémiques dans les tumeurs sous-cutanées et la rate des souris. En revanche, l'utilisation de CRISP-R/Cas9 pour déléter le gène d'IRAK4 dans les cellules malignes ne modifie pas la croissance des cellules injectées. Cela suggère que ces cellules ne dépendent pas directement des signaux induits par les TLR. En revanche, un marquage des macrophages spléniques met en évidence leur quasi disparition en présence d'inhibiteur d'IRAK4 et

¹ Chez ces souris, l'activation de TCL1 sous contrôle de l'*enhancer* des chaînes lourdes d'immunoglobulines (Eμ) conduit au développement d'une LLC. Ces souris ont également d'emblée un dérèglement des réponses T qui ressemble à celui observé dans la maladie humaine.

* Service d'hématologie biologique, CHU de Nantes.

** Service d'hématologie clinique, hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris.

également un nombre moindre de granuleux et de monocytes. En l'absence de traitement, ces macrophages spléniques en coculture protègent les cellules leucémiques de l'apoptose. À titre de contrôle, l'utilisation de CRISPR-Cas9 pour cibler les gènes *CXCR4* et *IGHM* (chaîne lourde des immunoglobulines) conduisait bien à une absence de prolifération tumorale, confirmant la dépendance des cellules de LLC à leur activation. Un traitement par inhibiteur d'IRAK4 dans la LLC aurait donc éventuellement un effet indirect via les cellules du microenvironnement, notamment en faisant disparaître les macrophages.

Intégrines et LLC

La molécule VLA-4 est une intégrine composée des chaînes α -4 (CD49d) et β -1 (CD29). Environ 40 % des patients atteints de LLC présentent une expression membranaire de VLA-4 sur les cellules tumorales, et ceci est associé à une moindre survie après chimiothérapie conventionnelle ou traitement par inhibiteur de BTK. Comme toutes les intégrines, VLA-4 doit adopter une configuration activée pour se fixer à ses ligands. Cette configuration peut être générée de façon "inside out" via l'activation du BCR, soit par liaison à un antigène, soit de façon autonome².

E. Tissino (*abstr. S136*) a utilisé un anticorps spécifique de l'intégrine ayant fixé son ligand³ pour évaluer l'activation de VLA-4. Parmi les patients exprimant VLA-4, environ la moitié présentent ainsi une intégrine spontanément activée. Par ailleurs, les patients CD49d+ ont des taux plasmatiques élevés du ligand⁴ VCAM-1 sous sa forme soluble, confirmant des travaux antérieurs ayant montré que VLA-4 induit une augmentation de la production de VCAM-1 par les cellules du microenvironnement. Cependant, les patients dont les cellules leucémiques circulantes expriment une forme activée de VLA-4 ont paradoxalement des taux plus bas de VCAM-1 soluble, liés à sa fixation sur l'intégrine (démontrée par comarage). En générant des lignées cellulaires capables d'activation autonome du BCR sous l'influence de tamoxifène, les auteurs ont démontré le lien entre cette activation et celle de VLA-4. De façon plus importante, ils ont également mis en évidence que l'ibrutinib est capable d'inhiber ce mécanisme, à la fois in vitro et in vivo. La recherche de l'expression de VLA-4 et/ou le dosage de VCAM-1 soluble pourraient ainsi constituer de nouveaux marqueurs d'intérêt dans la LLC.

Microvésicules

Les exosomes sont des microvésicules hétérogènes contenant divers composants intra- ou extracellulaires. E. Gargiulo (*abstr. S137*) a commencé par rappeler que des microvésicules issues de cellules de LLC favorisent la transformation des cellules mésenchymateuses en fibroblastes associés aux tumeurs⁵ et promeuvent la prolifération tumorale. De même, elles induisent la production de PD-L1 par les monocytes, là encore avec un effet protumorigène. Dans le travail présenté à Vienne, E. Gargiulo a montré que bien plus de microvésicules sont obtenues à partir de rates de souris présentant une LLC que de souris contrôles. Le contenu en protéines et en mRNA⁶ de ces microvésicules est enrichi en facteurs protumoraux. L'injection de microvésicules fluorescentes à des souris montre une captation par tous les types de lymphocytes spléniques mais un effet majeur sur les cellules CD8 avec une diminution de leurs fonctions. On observe notamment une augmentation de leur profil "exhausted", une altération de la production de cytokines pro-inflammatoires et une diminution de la production de granzyme B. Cela apparaît par ailleurs directement lié à l'internalisation de mRNA spécifiques. Dans un modèle de souris E μ -TCL1 génétiquement modifiées pour limiter la production de microvésicules, la maladie est ralentie et la survie augmentée. De plus, si l'injection précoce de lymphocytes CD8 normaux à ces souris empêche le développement de la maladie, celle-ci se déclare à la suite de l'injection de microvésicules.

Profil génomique prétraitement

Un résultat étonnant (*Al-Sawaf O et al., abstr. S143*) a été rapporté à la suite d'analyses ancillaires transcriptomiques du protocole CLL14. Si des profils transcriptomiques en analyse non supervisée sont observés en fin de traitement comme étant associés au statut mutationnel ou aux anomalies cytogénétiques, il ne semble pas en exister en lien avec la maladie résiduelle (MRD). En revanche, le transcriptome des patients avant traitement montre des différences selon l'obtention ultérieure ou non d'une MRD détectable. On note notamment la présence de transcrits de plus de molécules proapoptotiques pour les futurs répondeurs et de plus de marqueurs de résistance chez les futurs non-répondeurs.

² Activation autonome par des interactions BCR-BCR au niveau des Fab.

³ Cela induit l'accessibilité à un épitope caché dans la forme inactive.

⁴ Les ligands de VLA-4 sont la fibronectine, l'émiline et VCAM (*vascular cell adhesion molecule*).

⁵ CAF cells : *cancer-associated fibroblasts*.

⁶ Notamment miR-155 et miR-378a.

CD8 et LLC

Le travail d'E. Gargiulo a indiqué l'importance des lymphocytes CD8 dans le développement de la LLC. C'est aussi la thématique abordée dans plusieurs autres communications. G. Pagano (*abstr. S138*) a ainsi également montré leur rôle dans un modèle de souris dépourvues de T régulateurs où les CD8 retrouvent une activité antitumorale efficace. Surtout, M. Seifert a présenté 2 communications (*abstr. S142 et table ronde*) montrant que des cellules CD8+ effecteur/mémoire s'accumulent dans la rate ou les ganglions au cours de la LLC et qu'elles sont nécessaires au contrôle de la maladie. Cependant, au fur et à mesure de la progression, elles augmentent l'expression de PD-1 à leur surface, y compris dans les modèles murins, et deviennent moins efficaces. Les cellules CD8 exprimant les plus hauts niveaux de PD-1 sont aussi caractérisées par un profil transcriptomique particulier, notamment par une plus grande production de la cytokine immunosuppressive IL-10. In vivo dans un modèle murin TCL1, le blocage du récepteur à l'IL-10 par un anticorps monoclonal entraîne une augmentation des cellules tumorales circulantes, de la masse tumorale et des cellules PD-1^{hi}. Il en va de même chez des souris KO pour ce récepteur chez lesquelles les fonctions des cellules CD8 sont profondément altérées, notamment dans la formation de la synapse immunologique et dans la production de granzyme B. Ces résultats sont confirmés chez l'homme où les cellules CD8 des ganglions (mais pas du sang) sont enrichies en lymphocytes PD-1^{hi}. Par ailleurs, de façon un peu paradoxale, les patients présentant des taux élevés d'IL-10 circulante ont de meilleurs taux de survie que ceux présentant des taux plus bas. On peut le traduire par le fait que, dans le 1^{er} cas, les récepteurs de l'IL-10 sont plus volontiers engagés. Il s'agit d'une observation étonnante, mais ouvrant certainement de nouvelles perspectives.

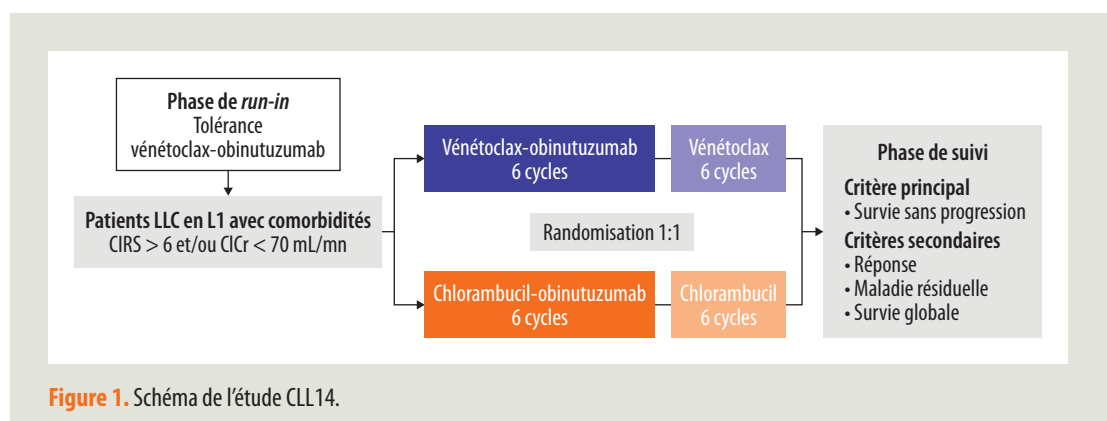
Focus clinique

Le congrès de l'EHA a été riche en présentations cliniques sur la LLC et, pour la grande majorité, en 1^{re} ligne. Elles associent un anticorps anti-CD20, le rituximab ou l'obinutuzumab, et soit un anti-BCL2, le vénétoclax, soit un inhibiteur de BTK (iBTK), l'ibrutinib ou l'acalabrutinib.

Associations anti-CD20 + anti-BCL2

La 1^{re} étude, CLL14, est une phase III classique dans la LLC pour les demandes d'AMM en 1^{re} ligne chez les sujets fragiles, comparant la (vienne) référence obinutuzumab + chlorambucil (O-C1b) à l'association "expérimentale" obinutuzumab + vénétoclax (O-Ven) (*figure 1*). Les résultats présentés par O. Al-Sawaf (*abstr. S148*) sont une actualisation à 5 ans. Avec désormais un suivi médian de 65,4 mois, la survie sans progression (SSP) reste très nettement supérieure avec O-Ven (HR = 0,35) (*figure 2*), différence qui reste supérieure pour les LLC mutées sur le gène des immunoglobulines (IgHV). À côté de ces résultats, somme toute attendus, on note une possible tendance à des cancers secondaires plus fréquents sous O-Ven (55 sur 212 contre 44 sur 214), notion inhabituelle qu'il faudra bien entendu surveiller.

La 2^e étude de phase III, appelée CLL13 ou GAIA, a comparé différents schémas thérapeutiques comportant du vénétoclax et un anti-CD20 à une référence d'immunochimiothérapie (ICT) classique: R-FC (rituximab + fludarabine + cyclophosphamide) ou R-Ben (rituximab + bendamustine) en fonction de l'âge (*figure 3*). Les patients inclus étaient en bon état général et leur LLC n'avait ni mutation TP53 ni del(17p). Le traitement était à durée limitée (*Eichhorst B et al., abstr. LB2365*). Deux critères principaux ont été choisis, l'un biologique, la MRD à 15 mois, et l'autre clinique, la SSP. Sur le 1^{er} critère (*figure 4, p. 270*),



l'association R-Ven ne présente pas d'intérêt alors que l'association O-Ven avec ou sans ibrutinib est significativement supérieure. Il en est de même pour le critère clinique (figure 5, p. 270), avec un suivi médian de 38,8 mois. Aucune comparaison directe entre O-Ven et O-Ven + ibrutinib n'étant prévue, il est difficile d'affirmer ou non si la triplette est vraiment supérieure. En termes de toxicité, il y a plus de cancers secondaires, notamment cutanés, sous immunochimiothérapie, mais les différences sont moins évidentes entre les associations comportant du vénétoclax. Ainsi, l'anticorps à associer au vénétoclax est l'obinutuzumab, mais l'intérêt d'y ajouter de l'ibrutinib reste à confirmer.

Associations anti-CD20 + iBTK

L'étude de phase III FLAIR (Hillmen P et al., abstr. S145) a comparé à l'ICT de référence (R-FC) l'ibrutinib avec ou sans vénétoclax (figure 6, p. 270). De façon originale, la durée de traitement est de 2 fois le temps pour obtenir une MRD indétectable (MRDi), soit un minimum de 2 ans et un maximum limité à 6 ans. Lors de l'analyse intermédiaire, le taux de rémission complète (RC) est de 59,6 % sous I-Ven contre 8 % sous ibrutinib, pour un taux de réponse globale (RG) identique (88,2 versus 86,2 %), ce qui n'est pas étonnant. À 2 ans, le taux de MRDi est de 71,3 % dans le sang et de 65,4 % dans la moelle sous I-Ven contre 0 % sous ibrutinib. La médiane d'atteinte de la MRDi est de 12 mois pour le sang et

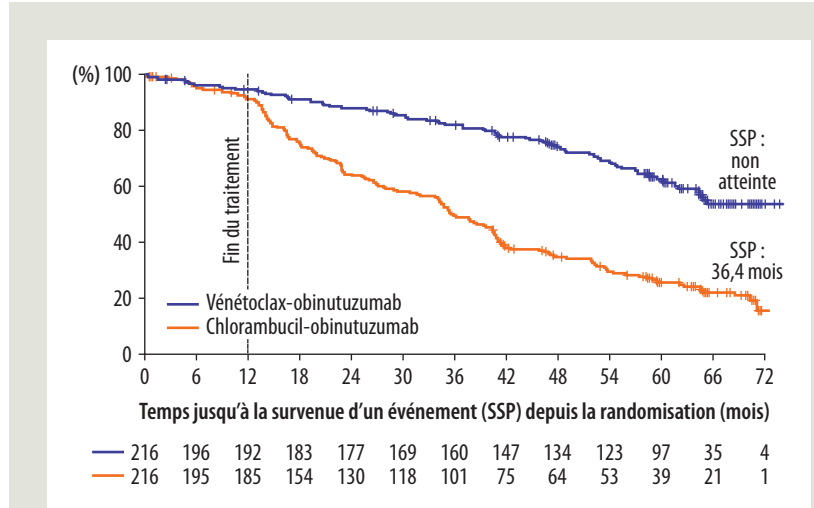


Figure 2. Étude CLL14 : survie sans progression.

de 19 mois pour la moelle, des taux élevés atteints au prix d'une toxicité modérément augmentée sous I-Ven. L'étude de phase III CAPTIVATE a comparé un bras ibrutinib puis I-Ven à durée fixe au même schéma mais par la suite adapté en fonction de la MRD. Dans la présentation de l'EHA (Moreno C et al., abstr. P669), c'est le schéma fixe qui était analysé (figure 7, p. 271). À 3 ans, le critère principal (taux de RC) diffère peu entre l'ensemble des patients, les LLC del(17p) et/ou mutées TP53 et les LLC avec IgHV non mutées (respectivement 57, 56 et 64 %),

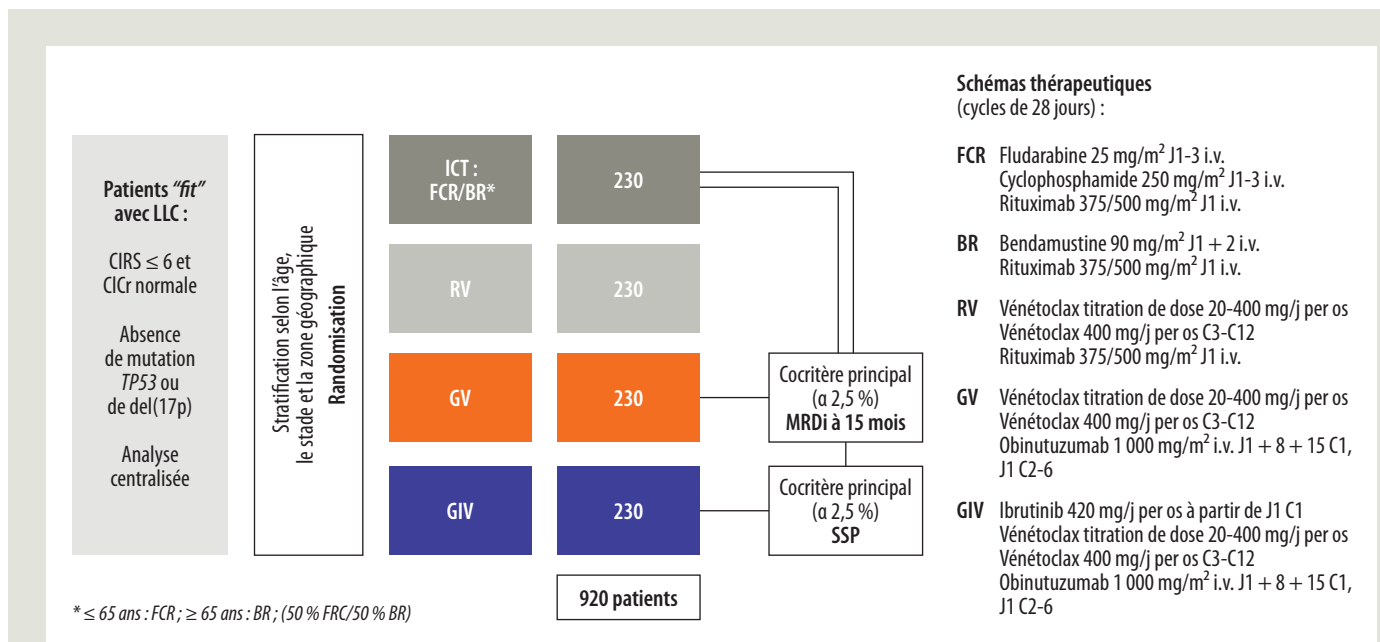


Figure 3. Schéma de l'étude CLL13.

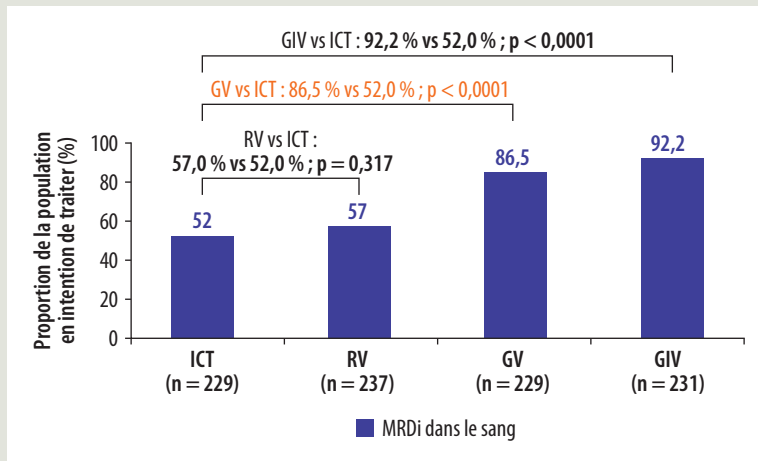


Figure 4. Étude CLL13 : MRD à 15 mois.

et la SSP reste excellente (figure 8). Les patients en rechute pouvaient être retraités avec de l'ibrutinib : sur 11 patients évaluables, traités de 6 à 32 mois lors de l'analyse, 9 sont en réponse partielle (RP), 1 en RP avec hyperlymphocytose et 1 avec maladie stable. L'acalabrutinib est un iBTK de 2^e génération, de mécanisme proche de celui de l'ibrutinib, mais avec un profil de tolérance différent. Deux mises à jour d'études de phase III ont été présentées : ELEVATE-TN (Sharman JP et al., abstr. P666) et ASCEND (Ghia P et al., abstr. P668). ELEVATE-TN, comme CLL14 vu précédemment, reprend le schéma comparatif versus O-C1b, mais en ajoutant un 3^e bras sans obinutuzumab (figure 9, p. 272) et en laissant l'acalabrutinib jusqu'à progression ou intolérance. Là aussi, comme attendu, la SSP est nettement supérieure lorsque l'on utilise de l'acalabrutinib lors de l'évaluation à 5 ans (figure 10, p. 272). De façon surprenante

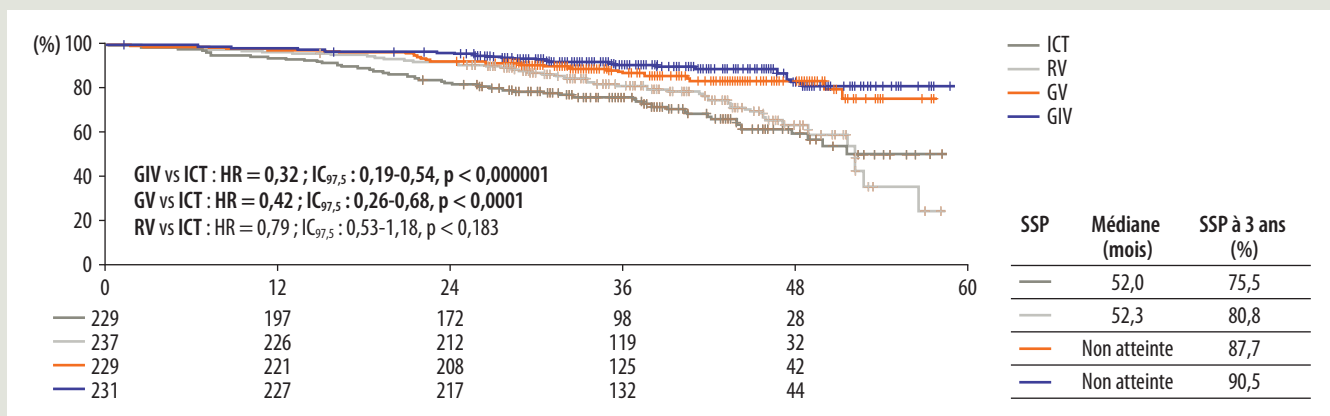


Figure 5. Étude CLL13 : survie sans progression.

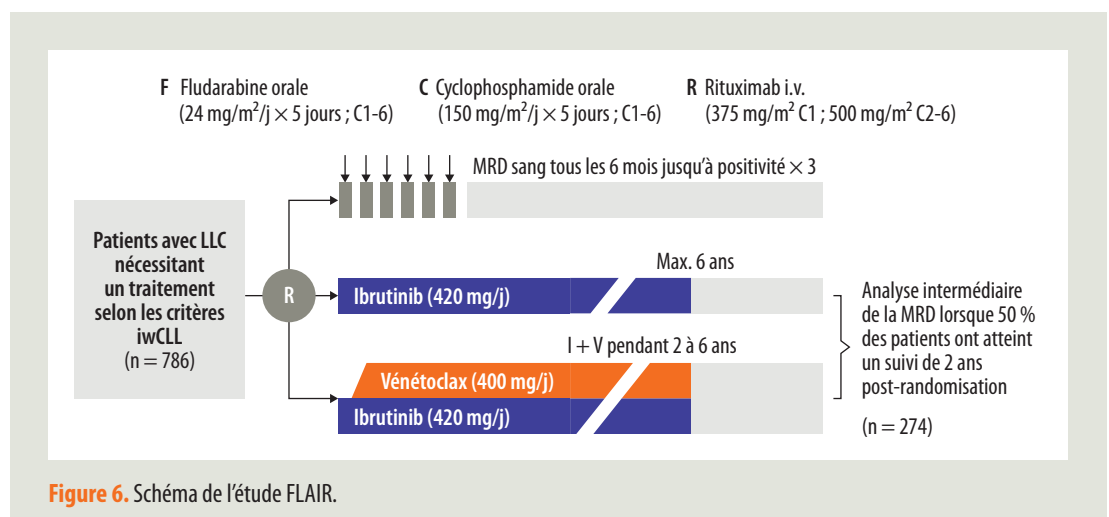
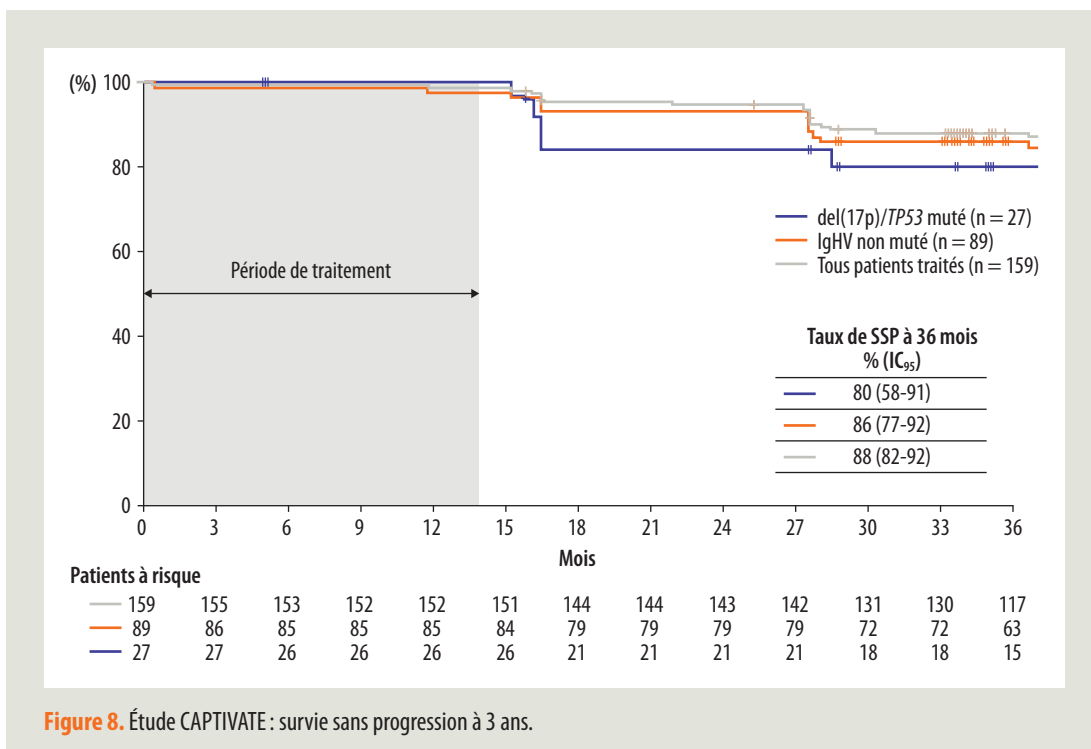
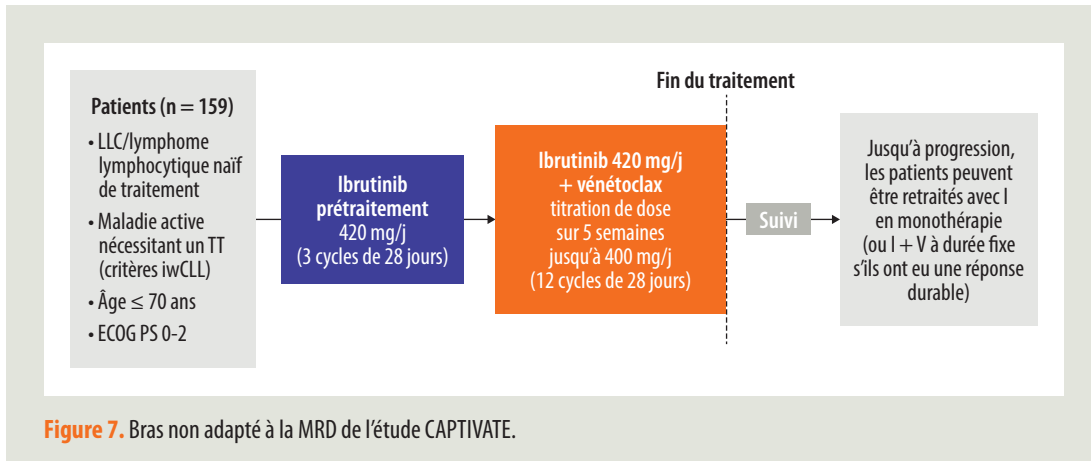


Figure 6. Schéma de l'étude FLAIR.



pour une étude en 1^{re} ligne dans la LLC, il existe un avantage en termes de survie pour O-A versus O-Clb. L'ajout d'obinutuzumab permet d'augmenter le taux de MRDi, passant de 9 % à 42 % à 5 ans. La tolérance est acceptable et classique, avec environ 10 % d'événements cardiaques de grade ≥ 3 sous acalabrutinib contre 1,8 % sous O-Clb. L'étude ASCEND a comparé la monothérapie par acalabrutinib à 2 références classiques et anciennes : R-idéalisis et R-Ben dans les LLC en rechute/réfractaire (R/R) (figure 11, p. 272). La monothérapie confirme son avantage en termes de SSP à 4 ans (figure 12, p. 273), avec une tolérance connue pour cette

molécule. Cet avantage demeure quel que soit le statut de TP53 ou l'état mutationnel IgHV, mais il n'existe pas d'avantage en termes de survie globale (SG).

Nouveaux iBTK en rechute/réfractaire

Le plus avancé des nouveaux iBTK est le pirtobrutinib. Dans l'étude de phase I/II BRUIN (Mato R et al., abstr. S147), 252 patients ont été traités pour des LLC ou des lymphomes lymphocytiques (LL) en R/R après iBTK. Le taux de réponse est élevé (68 %). Avec un suivi médian de 9,4 mois, la SSP médiane n'est pas encore atteinte (figure 13, p. 273) et 74 % des patients sont

DOSSIER

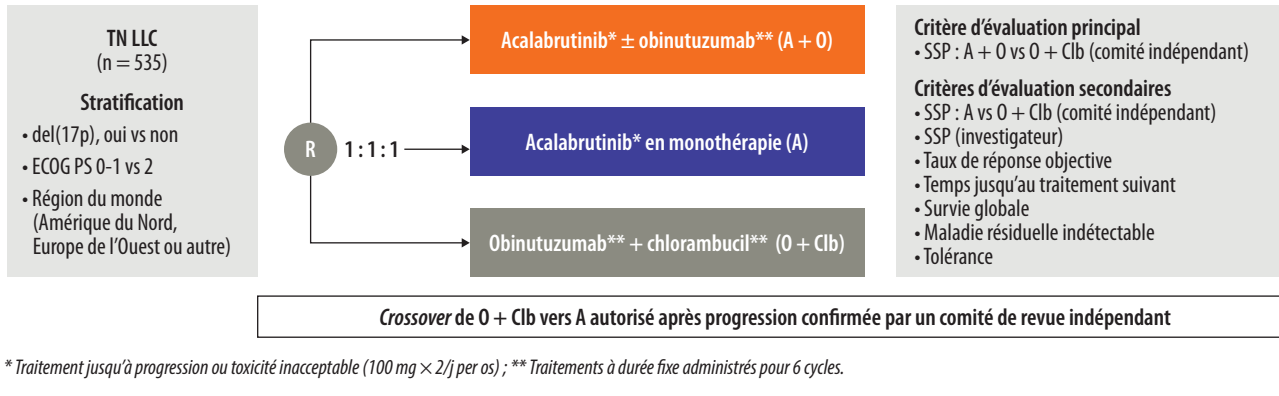


Figure 9. Schéma de l'étude ELEVATE-TN.

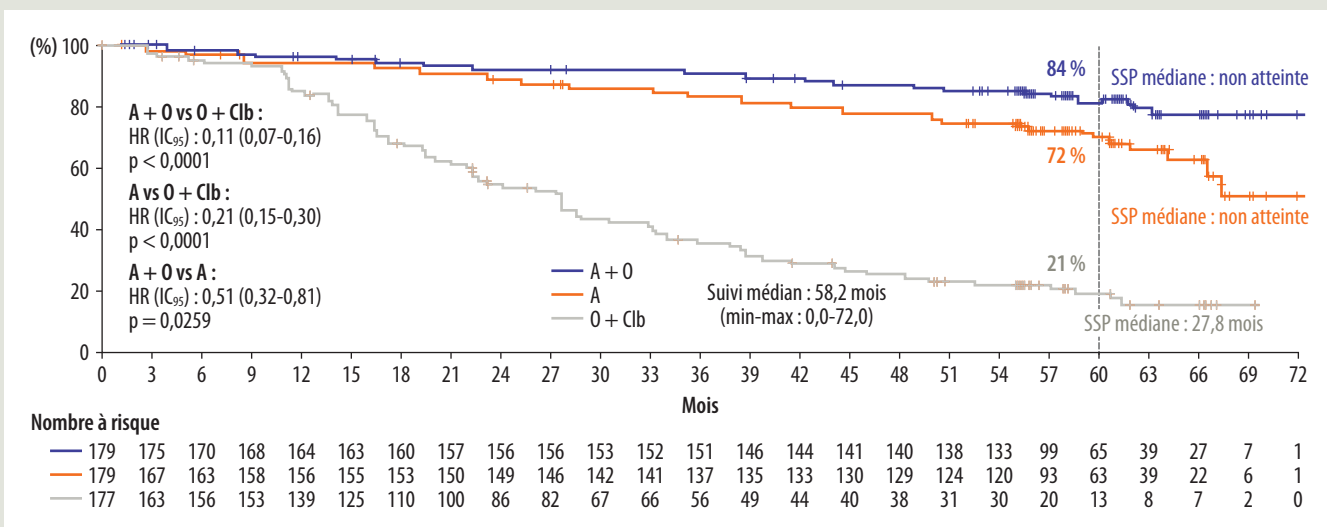


Figure 10. Étude ELEVATE-TN : survie sans progression à 5 ans.

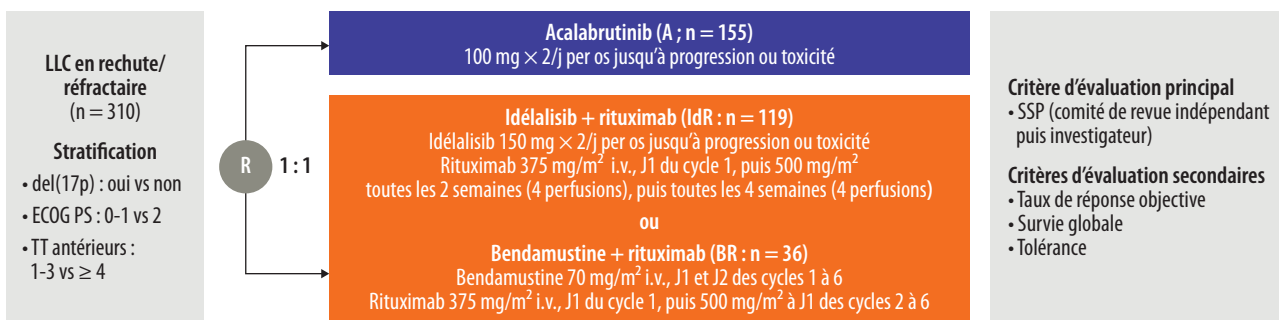
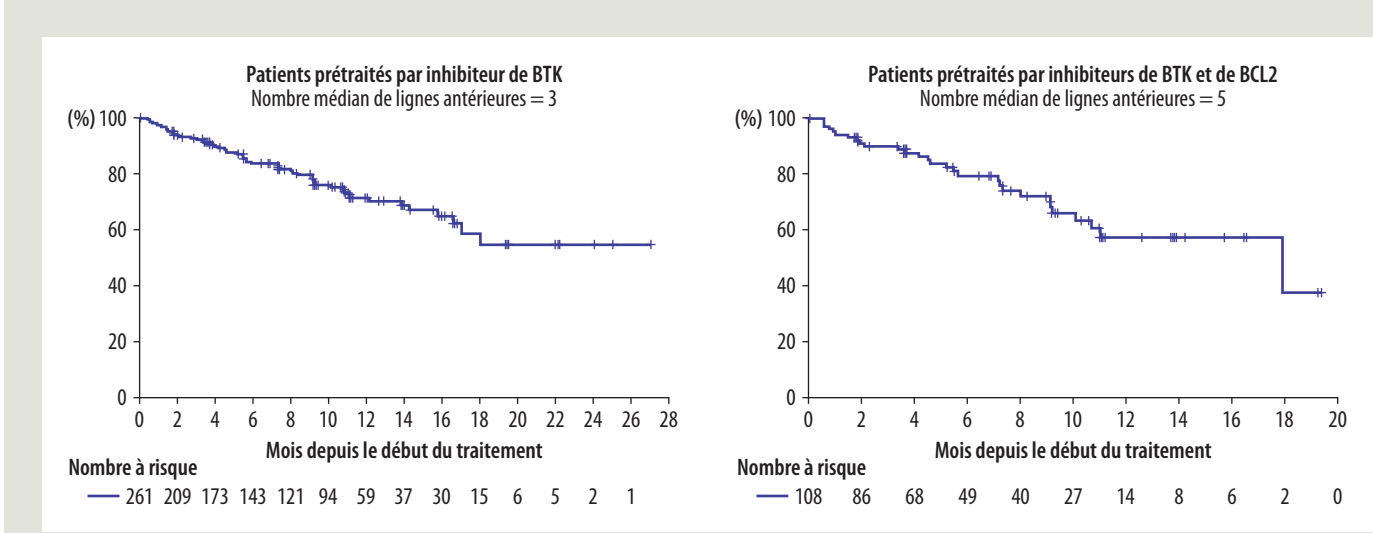
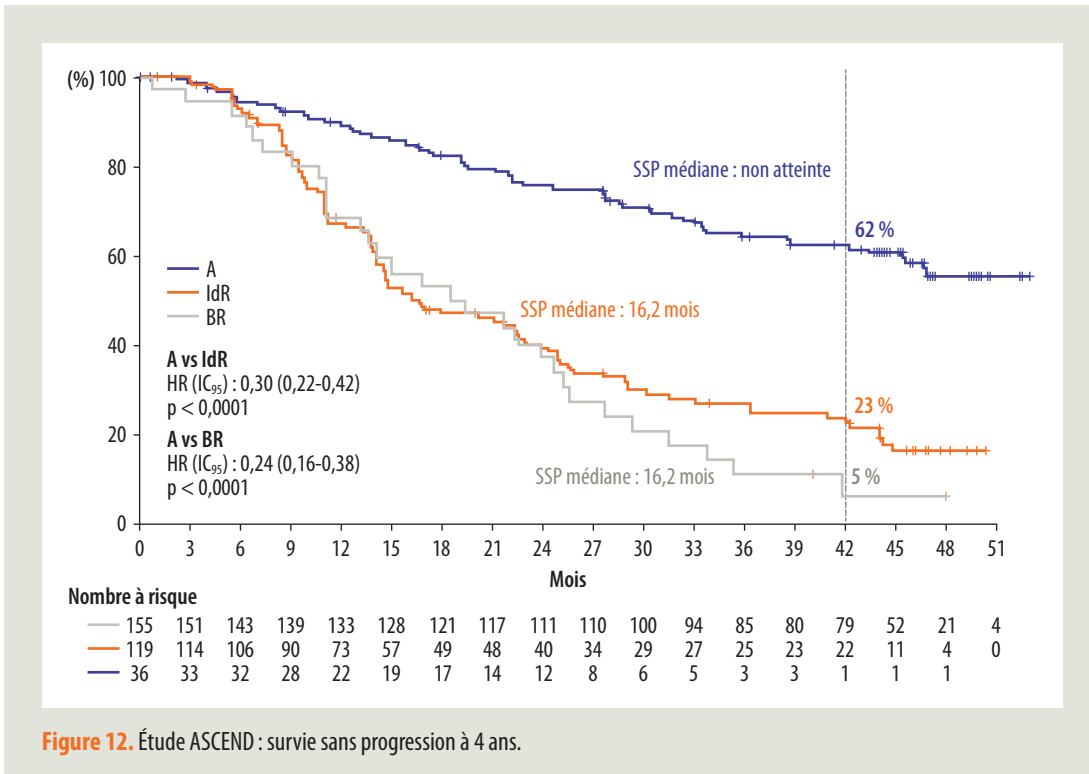


Figure 11. Schéma de l'étude ASCEND.



toujours sous pirtobrutinib. L'efficacité du pirtobrutinib semble identique, quel que soit le sous-groupe analysé, notamment si le patient a ou non la mutation de résistance à l'ibrutinib, BTK C481S. Le nemtabrutinib, un autre iBTK non covalent, comme le pirtobrutinib, a été étudié dans l'étude BELLWAVE-001 dans de multiples hémopathies lymphoïdes.

Les résultats préliminaires pour les LLC et LL en R/R ont été présentés (Woyach J et al., abstr. P682). Le taux de réponse est de 53 % et ne semble pas être sensible à la mutation BTK C481S. La toxicité de grade ≥ 3 est dominée par l'hématologie (27 % de neutropénies et 14 % de thrombopénies), l'hypertension (14 %) et les pneumopathies (14 %).

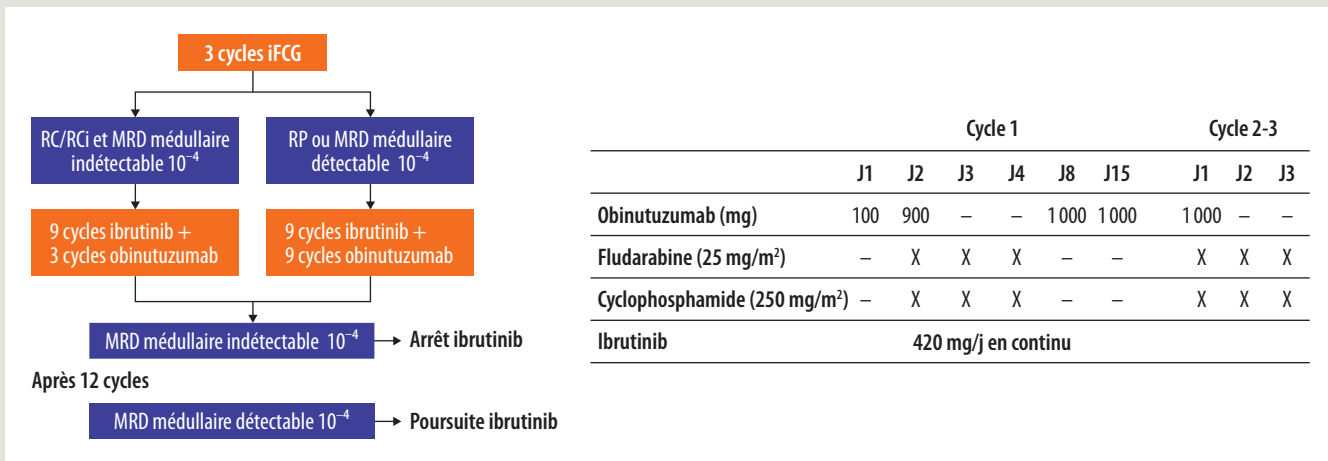


Figure 14. Schéma de l'étude.

Une nouvelle famille d'IBTK a été présentée dans des études de phase I : NX-2127 (Mato R et al., *abstr. P649*), NX-5948 (Linton K et al., *abstr. P650*) et BGB-16673 (Tam S et al., *abstr. P686*). Il s'agit de molécules chimériques ciblées comportant un ligand de l'ubiquitine ligase (partie appelée le "harnais"), un lien (*linker*) et un crochet composé d'un élément ciblant la molécule voulue (ici BTK), permettant d'induire une destruction par le protéasome de BTK. Cette nouvelle famille de médicaments porte le joli nom de PROTAC (*proteolysis-targeting chimeras*). À suivre...

Y a-t-il toujours une place pour l'immuno-chimiothérapie ?

Éternelle question avec de moins en moins de défenseurs... Il reste toutefois un village résistant, les LLC IgHV

mutées sans altération de TP53 et, dans ce domaine précis, N. Jain (*abstr. S149*) a présenté la mise à jour à 5 ans des résultats d'une association OFCI pendant 3 cycles puis un traitement par obinutuzumab et ibrutinib dont les modalités sont présentées dans la **figure 14**. Si l'étude est de petite taille (45 patients), les résultats sont spectaculaires avec 98 % de MRDi et, à 5 ans, 97,7 % de SSP. Si le congrès de l'EHA 2022 n'a pas révolutionné la prise en charge de la LLC, il a renforcé les données sur les thérapies ciblées et ouvert de séduisantes options thérapeutiques. ■

M.C. Béné déclare avoir des liens d'intérêts avec AstraZeneca.

S. Choquet déclare avoir des liens d'intérêts avec AbbVie, Atara, AstraZeneca, Janssen, BMS, Sandoz, Sanofi, Viatris, Takeda, Novartis et Gilead-Kite.