

Les vecteurs viraux en immunothérapie du cancer

Par **Éric QUÉMÉNEUR**

Directeur scientifique de Transgene

Par leurs propriétés uniques, les vecteurs viraux sont incontournables en thérapie génique ou pour l'ingénierie des thérapies cellulaires. Leur usage direct en tant qu'agent d'immunothérapie antitumorale, soit sous la forme de virus oncolytique ou comme vaccin thérapeutique, fait encore l'objet d'importants travaux de recherche et développement. L'approbation de T-Vec en 2015 a dopé le domaine des oncolytiques et près d'une vingtaine de produits sont en cours d'évaluation clinique. Les vecteurs non réplicatifs bénéficient de l'engouement général pour la vaccination thérapeutique et de l'arrivée des nouvelles classes d'antigènes. Ces deux classes d'immunothérapies virales trouvent parfaitement leur place dans les stratégies de combinaison avec d'autres modalités de traitement. Le secteur reste dynamique sur le plan de l'innovation technologique et clinique. Cet article évoque également les défis qui restent à relever pour que les vecteurs viraux puissent devenir une classe thérapeutique reconnue et industriellement mature.

Introduction

Les virus sont de remarquables nanomachines naturellement optimisées pour vectoriser une grande densité d'information génétique au sein de l'organisme infecté. L'ingénierie moléculaire permet d'augmenter leur sécurité d'emploi et de les spécialiser pour des fonctions biologiques définies. Depuis plusieurs décennies, les vecteurs viraux ont démontré leur potentiel dans une grande variété d'applications allant des vaccins recombinants à la thérapie génique. En oncologie, ils relèvent de la classe des immunothérapies, une classe thérapeutique en plein essor depuis la compréhension des mécanismes de l'immunosuppression, qui a ouvert la voie aux inhibiteurs de point de contrôle, et les progrès spectaculaires de la thérapie cellulaire.

L'évolution cancéreuse est caractérisée par l'accumulation de mutations somatiques et par l'échappement aux systèmes de contrôle de la prolifération et du non-soi immunitaire. On sait désormais que cette anergie peut être contrée sélectivement pour restaurer la sensibilité aux cellules T effectrices. Dans cette perspective, les vecteurs viraux constituent des clés particulièrement efficaces pour pénétrer dans le cycle de l'immunité antitumorale (voir la Figure 1). La force des vecteurs viraux par rapport à d'autres systèmes de vectorisation tient dans i) leurs propriétés adjuvantes intrinsèques, ii) l'induction d'une réponse cellulaire T effectrice et mémoire, iii) la capacité d'encoder et de présenter une grande diversité d'antigènes de grande taille, ainsi que des effecteurs immunitaires. Le vecteur viral récapitule tout le processus d'infection naturelle et d'induction de mémoire immunitaire, notamment le passage par la voie MHC de classe I de dégradation des antigènes

hétérologues. On n'oubliera pas la sécurité d'emploi, issue d'une très longue expérience de mise en œuvre en prophylaxie anti-infectieuse.

On distingue classiquement les vecteurs viraux réplicatifs et les non réplicatifs. Les premiers sont rendus non pathogènes par des délétions génétiques dirigées mais ont conservé leurs propriétés d'infection et de réplication. Lorsqu'ils sont sélectifs des cellules tumorales, on parle de virus oncolytiques. Les vecteurs non réplicatifs sont atténués par passage sur cellules et/ou par délétions génétiques ciblés. Ayant conservé leurs propriétés immunologiques, ils constituent la base du développement de vaccins. On pourra se référer à Wang *et al.* (2023) pour une revue récente du domaine.

La virothérapie oncolytique, une immuno-thérapie polyvalente

Le paradigme initial des virus oncolytiques était que certains variants naturels ou génétiquement modifiés pouvaient cibler sélectivement les cellules tumorales en épargnant les cellules saines. Ceci est facilité par les caractéristiques spécifiques du micro-environnement tumoral (MET), les fameux "hallmarks of cancer" d'Hanahan et Weinberg, qui en font un milieu très favorable à la réplication virale (Fonteneau et Quéméneur, 2019). Cette action cytotoxique directe et spécifique est observée de façon claire dans les modèles précliniques mais il est désormais admis que la réponse immunitaire, d'abord considérée comme défavorable à l'action du virus, joue probablement le rôle prépondérant dans le mode d'action. L'infection

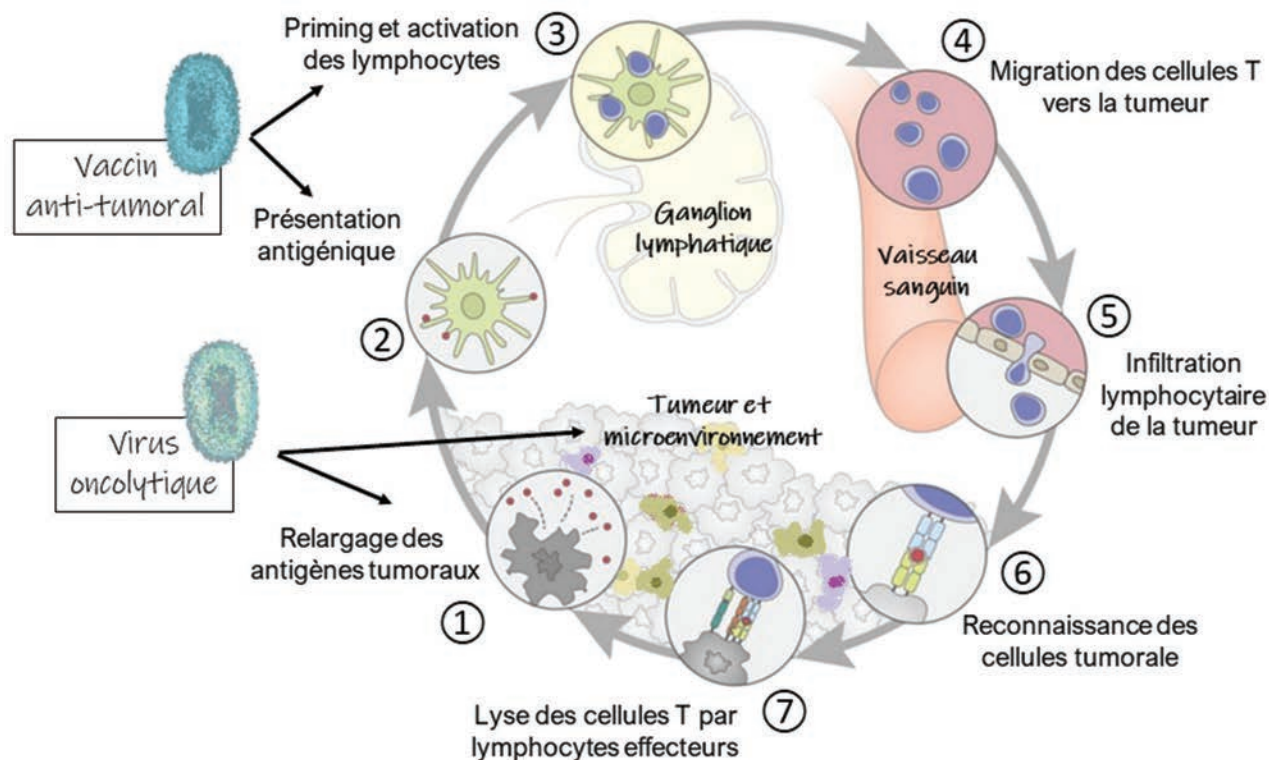


Figure 1 : Les vecteurs viraux et le cycle de l'immunité anti-cancéreuse. Le cycle de Chen et Mellman (2013) identifie les sept cibles biologiques susceptibles d'être visées par des agents spécifiques afin de monter une réponse immunitaire anti-tumorale efficace. Les virus oncolytiques ont la propriété d'infecter directement les cellules tumorales, de s'y répliquer et d'induire une lyse immunogénique, libérant antigènes (1) et signaux d'alerte immunitaire qui vont engager les cellules présentatrices (2). Ils peuvent également délivrer des modulateurs du microenvironnement tumoral. Les vaccins thérapeutiques vont, quant à eux, interagir directement avec la présentation antigénique dans les structures lymphoïdes (2), y activant les cellules T cytotoxiques qui rejoindront ensuite la circulation.

virale induit une mort cellulaire immunogène, avec émission des nombreux signaux moléculaires (PAMPs, DAMPs, cytokines, etc.) qui permettent le recrutement des cellules immunitaires dans le MET ; on parle de conversion de tumeur immunologiquement « froide » en « chaude ». Il se forme ainsi un duo dynamique entre les réponses innée et adaptative, préalable indispensable à l'induction d'une immunité productive comme la tumeur (Gujar *et al.*, 2018 ; de Matos *et al.*, 2020).

Aux deux piliers du mode d'action que sont la réplication sélective et l'induction immunitaire, s'ajoute un troisième qui est la délivrance ciblée de molécules recombinantes capables de remodeler le MET. Ces armements moléculaires peuvent être de natures variées : cytokines, enzymes, anticorps, co-stimulateurs de la réponse immunitaire, etc.

À ce jour, quatre virus oncolytiques ont été autorisés pour la mise sur le marché :

- Rigvir®, un entéro-picornavirus non répliquatif et non modifié génétiquement, approuvé pour le traitement local du mélanome en Lettonie en 2004, puis en Géorgie, Arménie et Ouzbékistan. L'autorisation a toutefois été suspendue en mai 2019 par manque de preuve de son efficacité.

- Oncorine® (rAd5-H101), un adénovirus atténué génétiquement par délétion des gènes E1B et E3, approuvé en Chine depuis 2006 et commercialisé par Shanghai Sunway Biotech pour le traitement des carcinomes squameux oro-pharyngés et de l'œsophage déficient en p53.

- Imlygic® (talimogène laherparepvec, ex T-Vec, OncoVex), un HSV1 exprimant GM-CSF commercialisé par Amgen, approuvé par la FDA en 2015, puis par l'EMA en 2016 pour le traitement local du mélanome non résectable et avec métastases sur la base des résultats de l'étude randomisée de phase 2 OPTiM (436 patients). Cette première approbation sur les marchés occidentaux fut un moment important pour le secteur mais le succès commercial n'est pas encore au rendez-vous, principalement en raison du changement radical de pratique (arrivée des thérapies ciblant BRAF et MEK, des inhibiteurs de l'axe PD-1/PD-L1). Les études se poursuivent en combinaison (Kaufman *et al.*, 2022).

- Delytact (teserpaturev, G47Δ), un HSV1 non armé commercialisé par Daiichi Sankyo, a obtenu une autorisation temporaire d'utilisation au Japon en 2021 pour le traitement du glioblastome résiduel ou récurrent en deuxième ligne sur la base d'une étude de phase 2 simple bras à 19 patients (Todo *et al.*, 2022). Ces résultats remarquables devront être confirmés dans une étude contrôlée et randomisée.

Ces quatre produits sont utilisés par voie intratumorale. Plusieurs travaux montrent que leur activité n'est pas restreinte à la tumeur injectée ; la réponse immunitaire induite pouvant agir à distance (réponse abscopale).

Les virus oncolytiques représentent un champ très actif de recherche préclinique et clinique, explorant de très nombreuses familles de virus, types d'armements, indications et voies d'administration, très souvent en combinaison avec d'autres modalités de traitement du cancer. On pourra se référer à Cook et Chauhan (2020) ou Yun *et al.* (2022) pour une synthèse des études cliniques récentes. On compte près de 80 études en cours sur le site clinicaltrials.gov.

Le secteur suscite un intérêt croissant depuis l'approbation de T-Vec en 2015. Avec près de 870 M\$ levés en capital par les entreprises du secteur, 2021 a été une année exceptionnelle (Kim *et al.*, 2022). Mais le succès scientifique et clinique que représente une AMM ne garantit évidemment pas le succès commercial. La situation d'Imlygic® (T-Vec) est un bon exemple des hauts et bas du secteur tels que décrits par Larson *et al.* en 2015. L'étude Masterkey-265, phase 3 randomisée et en double aveugle combinant T-Vec avec pembrolizumab dans le mélanome, n'a pas atteint ses critères de succès tandis que l'étude parallèle de combinaison avec ipilimumab, partie sur une base incertaine, est finalement la première à atteindre ses objectifs (Chesney *et al.*, 2022, 2023). Affaire à suivre !

Il reste un besoin considérable de R&D pour que les oncolytiques confirment tout leur potentiel. Les développements devront se poursuivre avec des « approches imaginatives et collaboratives, et plutôt à des stades cliniques précoces que tardifs » (Melcher *et al.*, 2021).

Transgene a construit son programme oncolytique sur le vecteur Vaccinia et sur les leçons apprises du développement infructueux de Pexa-Vec (VACVTK-/GM-CSF) dans le cancer du foie. Une étude récente en mode néoadjuvant nous a confirmé que l'administration intraveineuse pouvait induire la réponse immunologique (Samson *et al.*, 2022). Un nouveau vecteur, Vaccinia souche Copenhague, double délété (VVTK-RR-), plus oncolytique et plus spécifique a pu être conçu (Foloppe *et al.*, 2019). Le produit TG6002 (VVTK-RR--Fcu1) a montré sa capacité à atteindre la métastase hépatique du cancer colorectal après administration intraveineuse (Moreno *et al.*, 2022). BT-001 (VVTK-RR--GMCSF/anti-CTLA-4), codéveloppé avec BioInvent, a montré une excellente capacité à « réchauffer » les tumeurs en préclinique (Semmrich *et al.*, 2022), il est en cours d'évaluation clinique dans une large palette de tumeurs superficielles (NCT04725331). TG6050 (VVTK-RR-M2L--IL12/anti-CTLA-4) vient d'entrer en clinique dans le cancer du poumon (NSCLC) en perfusion intraveineuse (étude DELIVIR, NCT05788926). Notre plate-forme technologique invirIO® de conception de poxvecteurs oncolytiques armés permet de soutenir des programmes collaboratifs (e.g. AstraZeneca entre 2019 et 2023, PersonGen depuis 2022).

Vecteurs viraux non répliquatifs et vaccins thérapeutiques

Trois vecteurs viraux non répliquatifs sont approuvés en thérapie génique oncologique :

- Gendicine (Ad5RSV-P53, Shenzhen SiBiono GeneTech), un adénovirus recombinant codant pour l'oncogène humain p53, approuvé en Chine depuis 2003 pour le traitement du carcinome oropharyngé (HNSCC) ;
- Rexin-G (Mx-dnG1, Epeius Biotechnologies), un rétrovirus MLV présentant à sa surface un peptide liant SIG, et exprimant un mutant dominant-négatif de la cycline G1. Approuvé aux Philippines en 2007 pour le traitement des cancers métastatiques, il bénéficie d'une "Fast Track designation" aux USA depuis 2009 ;
- Adstiladrin® (nadofaragene firadenovec-vncg, Ferring Pharmaceuticals A/S), un adénovirus codant pour l'interféron alfa-2b, approuvé par la FDA en 2022 pour le traitement du cancer de la vessie (NMIBC) non répondeur au BCG.

Alors que les vaccins préventifs ont fait leur preuve (cf. Cervarix®, Gardasil-9®, HEPLISAV-B®), le développement de vaccins thérapeutiques anti-tumoraux reste toutefois une gageure (Tartour, 2018). Le seul vaccin à avoir démontré son efficacité thérapeutique dans des essais de phase 3 est le Provenge® (sipuleucel-T, Dendreon Corp.), un produit cellulaire qui a obtenu l'AMM de la FDA en 2010, puis celle de l'EMA en 2013, pour le traitement du cancer de la prostate résistant à la castration. Néanmoins, sa complexité et son coût, pour un bénéfice relativement modeste (gain en survie de 4 mois) n'ont pas permis son succès commercial.

On assiste depuis dix ans à une résurgence des vaccins thérapeutiques, résultat d'une meilleure connaissance des antigènes tumoraux, de la dynamique de la réponse immunitaire, et de nouvelles technologies comme les ARN messagers (Saxena *et al.*, 2021). Comme on l'a vu en introduction, les vecteurs viraux nous semblent présenter un grand potentiel et de nombreux avantages par rapport aux autres technologies vaccinales. Nous avons, à Transgene, fait le pari du vecteur non répliquatif MVA (Modified Vaccinia Ankara), pour le développement de notre plate-forme de vaccination thérapeutiques (Bendjama et Quéméneur, 2017 ; Guo *et al.*, 2019). Son point fort est sa versatilité qui lui permet d'intégrer une large diversité de classes d'antigènes tumoraux. Ainsi, TG4010, un MVA exprimant Muc1, un "tumor-associated antigen", a confirmé que la vaccination induisait à la fois une grande diversité de réponses T contre les antigènes présentés, mais également une extension du répertoire au-delà de ceux-ci (*epitope spreading*) qui corrèle positivement avec la réponse clinique (Tosch *et al.*, 2019). Un autre produit, TG4001 (tipapkinogen sovacivec), un MVA exprimant les protéines E6 et E7 de l'HPV16, des "tumor-specific antigens", a montré des performances remarquables dans le contrôle des lésions de bas grade du col de l'utérus (Harper *et al.*, 2021). Il est généralement admis

que les vaccins anti-antitumoraux ne devraient plus être administrés en monothérapie dans des cancers à des stades avancés mais évalués en combinaison avec des inhibiteurs de l'axe PD-1/PD-L1. Nous terminons actuellement une étude de phase 2 de TG4001 avec avelumab dans les cancers oropharyngés et anogénitaux HPV16+ (NCT03260023).

La tendance est aux néoantigènes et aux vaccins personnalisés (Blass et Ott, 2021). Nous avons développé la plate-forme de vecteurs individualisés myvac® à partir d'un prototype de MVA exprimant 18 néoépitopes prédits à partir du mutanome d'un patient NSCLC (McCann *et al.*, 2022). Le produit TG4050, entré en essai clinique en 2021, est issu de notre collaboration avec NEC, un spécialiste d'intelligence artificielle. TG4050 comprend 30 épitopes néoantigéniques, prédits comme les plus immunogènes à partir de l'analyse du mutanome, et est fabriqué sur mesure pour chaque patient (voir la Figure 2). Ce vaccin est actuellement évalué dans deux essais cliniques de phase I chez des patients atteints de cancers de la tête et du cou HPV-négatifs (NCT04183166) et de cancers de l'ovaire (NCT03839524), après résection chirurgicale et en situation de rechute. Les premières données cliniques sont très encourageantes (Lalanne *et al.*, 2023). Nous préparons actuellement l'essai de phase 2 en situation adjuvante dans les cancers de la tête et du cou. Il y a évidemment une forte compétition entre les diverses technologies de vaccination personnalisée (Sahin et Türeci, 2018), notamment sur les critères d'efficacité clinique et de coûts-délais de production pharmaceutique. Ces derniers sont une priorité R&D de notre programme myvac®.

Les défis et opportunités dans le développement des vecteurs viraux

La longue tradition de recherche biologique sur les vecteurs viraux en oncologie a permis de constituer un socle solide de connaissances fondamentales et cliniques. Selon moi, plusieurs axes d'innovation technologique doivent être renforcés si l'on veut en exploiter toute la valeur économique :

- Les méthodes de recherche translationnelle, indispensables pour l'interaction efficace entre pratique clinique et modélisation préclinique dans l'utilisation des produits actuels ou la conception des futurs vecteurs viraux. C'est le champ dans lequel sont attendus de nouveaux biomarqueurs prédictifs de réponses ou d'analyse des interactions entre traitements. Ils feront probablement appel aux dernières avancées dans les domaines des multi-omiques, des « tumeurs-sur-puces », etc.
- Les voies d'administration et la biodistribution. La voie d'administration est clef pour l'efficacité de la vaccination thérapeutique (Tartour, 2018). On manque encore de données sur l'activité des vaccins viraux en voie mucosale ou en mode *prime/boost*. L'administration répétée des oncolytiques par voie intraveineuse pour le traitement des maladies avancées reste un graal. De nombreuses options sont proposées pour contourner les mécanismes de neutralisation anti-vecteur, basées sur des approches physiques, galéniques ou biologiques (Harrington *et al.*, 2019).

L'imagerie dynamique *in vivo* des vecteurs et de la réponse immunitaire devient une nécessité pour soutenir ces deux premiers axes.

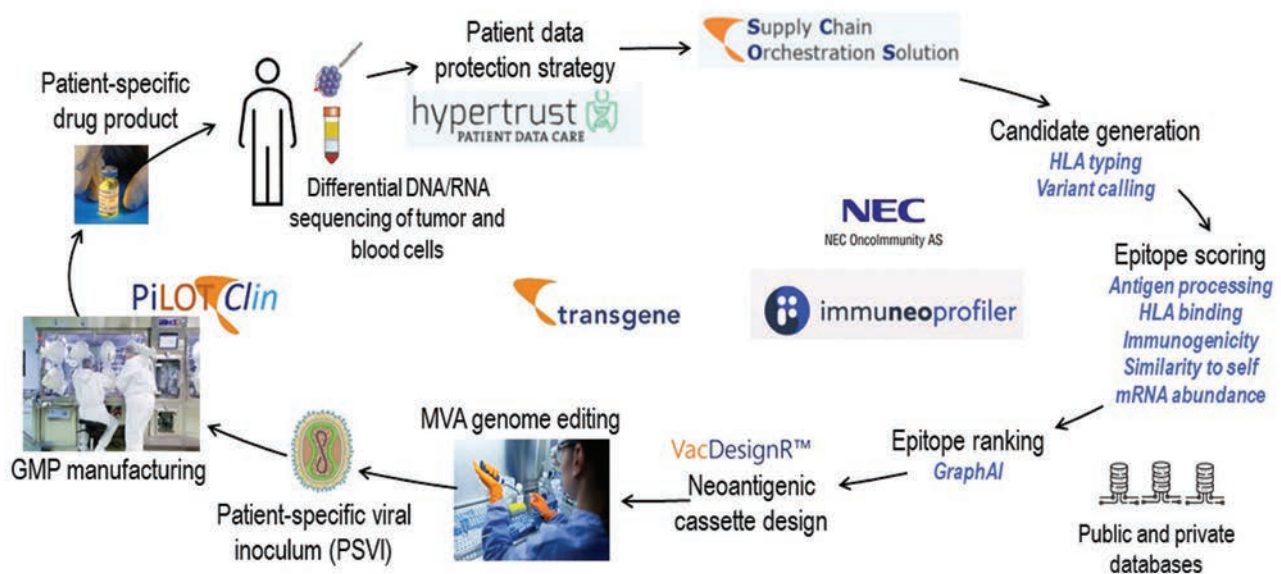


Figure 2. Conception et fabrication du vaccin antitumoral individualisé TG4050. Schéma coordonné d'enchaînement des tâches depuis l'analyse génomique de la tumeur du patient jusqu'à la fourniture du vaccin individualisé au centre clinique. La protection des données personnelles est un enjeu majeur, tout comme la maîtrise des délais. L'amélioration du temps de cycle est un objectif majeur d'optimisation à chaque étape du procédé.

Les méthodes de bioproduction et de formulation. Les procédés actuels de production pharmaceutique sont relativement robustes mais largement perfectibles en termes de rendement et de productivité. Ils devront être adaptés aux besoins des nouvelles formulations de virus oncolytiques. Le développement des vaccins personnalisés impose un nouveau cadre (délais de fabrication et contrôle, coûts unitaires, etc.) qui va doper les travaux sur l'automatisation, le parallélisme et le contrôle qualité.

Le développement des vecteurs viraux en oncologie n'a pas été un long fleuve tranquille mais, constatant les progrès considérables de ces deux dernières décennies, les concrétisations semblent proches et le meilleur reste probablement à venir.

Bibliographie

Par ordre de citation dans l'article.

- WANG *et al.* (2023), "Viral vectored vaccines: design, development, preventive and therapeutic applications in human diseases", *Signal Transduct. Targeted Ther.*, 8, 149 (38 p. 554 refs.).
- CHEN D.S. & MELLMAN I. (2013), "Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle", *Immunity*, 39, pp. 1-10.
- FONTENEAU J.F. & QUEMENEUR E. (2019), « L'immunovirothérapie oncolytique, une stratégie émergente de traitement du cancer », *Rev. Immunité & Cancer*, 3, pp. 19-30.
- GUJAR *et al.* (2018), "Antitumor benefits of antiviral immunity: an underappreciated aspect of oncolytic virotherapies", *Trends Immunol.*, 39, pp. 209-221.
- DE MATOS A.L., FRANCO L.S. & MCFADDEN G. (2020), "Oncolytic viruses and the immune system: the dynamic duo", *Mol. Ther.: Methods & Clin. Dev.*, 17, pp. 349-358.
- KAUFMAN H.L., SHALHOUT S.Z. & IODICE G. (2022), "Talimogene laherparepvec: moving from first-in-class to best-in-class", *Front. Mol. Biosciences*, 9, 834841.
- TODD *et al.* (2022), "Intratumoral oncolytic herpes virus G47Δ for residual or recurrent glioblastoma: a phase 2 trial", *Nature Medicine*, 28, pp. 1630-1639.
- COOK M. & CHAUHAN A. (2020), "Clinical application of oncolytic viruses: a systematic review", *Int. J. Mol. Sci.*, 21, 7505 (36 p., 142 ref.).
- YUN C.O., HONG J. & YOON A.R. (2022), "Current clinical landscape of oncolytic viruses as novel cancer immunotherapeutic and recent preclinical advancements", *Front. Immunol.*, 13:953410 (33 p., 249 ref.).
- KIM *et al.* (2022), "A renaissance of innovation in viral immunotherapy", *Bioinsights*, a Piper-Sandler report (102 p.).
- LARSON *et al.* (2015), "Going viral: a review of replication-selective oncolytic adenoviruses", *Oncotarget*, 6, pp. 19976-19989.
- CHESNEY *et al.* (2022), "Randomized, double-blind, placebo-controlled, global phase III trial of Talimogene laherparepvec combined with pembrolizumab for advanced melanoma", *J. Clin. Oncol.*, 41, pp. 528-540.
- CHESNEY J *et al.* (2023), "Talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab versus ipilimumab alone for advanced melanoma: 5-year final analysis of a multicenter, randomized, open-label, phase II trial", *Journal for immunotherapy of cancer*, 11(5), e006270
- MELCHER A., HARRINGTON K. & VILE R. (2021), "Oncolytic virotherapy as immunotherapy", *Science*, 374, pp. 1325-1326
- SAMSON *et al.* (2022), "Neoadjuvant intravenous oncolytic Vaccinia virus therapy promotes anticancer immunity in patients", *Cancer Immunol Res.*, 10, pp. 745-756.
- FOLOPPE *et al.* (2019), "The enhanced tumor specificity of TG6002, an armed-oncolytic Vaccinia virus deleted in two genes involved in nucleotide metabolism", *Mol. Ther. Oncolytics*, 14, pp. 1-14.
- MORENO *et al.* (2022), "Updated data of biodistribution and activity of oncolytic virus TG6002 after intravenous administration in patients with advanced gastrointestinal carcinomas", *ESMO Congress*, #4886
- SEMMRICH *et al.* (2022), "Vectorized Treg-depleting a elicits antigen cross-presentation and CD8+ T cell immunity to reject 'cold' tumors", *Journal for immunotherapy of cancer*, 10(1), e003488.
- TARTOUR E. (2018), « Vaccins anti-cancer: quel avenir dans les stratégies d'immunothérapie anti-cancéreuse », *Biologie aujourd'hui*, 212, pp. 69-76.
- SAXENA *et al.* (2021), "Therapeutic cancer vaccines", *Nature Reviews Cancer*, 21, pp. 360-378.
- BENDJAMA K. & QUEMENEUR E. (2017), "Modified Vaccinia virus Ankara-based vaccines in the era of personalized immunotherapy of cancer", *Hum. Vacc. & Immunotherapeutics*, 3(9), 1997-2003.
- GUO *et al.* (2019), "Vaccinia virus-mediated cancer immunotherapy and oncolytics", *Journal for immunotherapy of cancer*, 7, 6 (21 p.).
- TOSCH *et al.* (2017), "Viral based vaccine TG4010 induces broadening of specific immune response and improves outcome in advanced NSCLC", *Journal for immunotherapy of cancer*, 5, 70 (10 p.).
- HARPER *et al.* (2019), "The efficacy and safety of tipapkinogen sovavicec therapeutic HPV vaccine in cervical intraepithelial neoplasia grades 2 and 3: Randomized controlled phase II trial with 2.5 years of follow-up", *Gynecol. Oncol.*, 153, pp. 521-529.
- BLASS E. & OTT P.A. (2021), "Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines", *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 18, pp. 215-229.
- MC CANN *et al.* (2022), "Targeting the tumor mutanome for personalized vaccination in a TMB low non-small cell lung cancer", *Journal for immunotherapy of cancer*, 10(3), e003821.
- LALANNE *et al.* (2023), "Phase 1 studies of personalized neoantigen vaccine TG4050 in ovarian carcinoma (OvC) and head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC)", *AACR annual conference*, #LB205.
- SAHIN U. & TÜRECI Ö. (2018), "Personalized vaccines for cancer immunotherapy", *Science*, 359, pp. 1355-1360.
- HARRINGTON *et al.* (2019), "Optimizing oncolytic virotherapy in cancer treatment", *Nature Rev. Drug Discovery*, 18, pp. 689-706.