



(12) BREVET D'INVENTION

- (11) N° de publication : **MA 43767 B1** (51) Cl. internationale : **C07K 16/28**
(43) Date de publication : **30.08.2019**

-
- (21) N° Dépôt : **43767**
(22) Date de Dépôt : **28.02.2017**
(30) Données de Priorité : **29.02.2016 US 201662301271 P**
(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT: **PCT/IB2017/000293 28.02.2017**
(86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: **EP17716593.3**
(71) Demandeur(s) : **OSE Immunotherapeutics, 22 Boulevard Benoni Goullin 44200 Nantes (FR)**
(72) Inventeur(s) : **POIRIER, Nicolas ; MARY, Caroline**
(74) Mandataire: **ATLAS INTELLECTUAL PROPERTY**

-
- (54) Titre : **ANTICORPS NON ANTAGONISTES DIRIGÉS CONTRE LA CHAÎNE ALPHA DU DOMAINE EXTRACELLULAIRE DU RÉCEPTEUR DE L'IL-7 ET LEUR UTILISATION DANS LE TRAITEMENT DU CANCER**
(57) Abrégé : L'invention concerne des anticorps humanisés dirigés contre le domaine extracellulaire de la chaîne alpha du récepteur de l'interleukine-7 (IL-7), notamment contre le récepteur de l'IL-7 humaine exprimé sur les cellules humaines (également appelé IL-7Ralpha ou IL-7Ra ou CD127 humain) et qui n'interfèrent pas avec les voies de signalisation de l'IL-7 ou du TSLP. Les anticorps de la présente invention ne présentent pas un effet antagoniste sur le récepteur de l'IL-7, mais peuvent toujours présenter une activité cytotoxique contre des cellules CD127 positives. Dans un mode de réalisation particulier, l'anticorps ne présente pas un effet agoniste sur le récepteur de l'IL-7.

Revendications

1. Anticorps ou un fragment de liaison à un antigène de celui-ci, qui comprend les CDR suivantes :
- 5 - VH-CDR1 dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VH3-CDR1 de SEQ ID NO : 14 ;
- VH-CDR2 dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VH3-CDR2 de SEQ ID NO : 16 ;
- VH-CDR3 dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VH3-
10 CDR3 de SEQ ID NO : 18 ;
- VL-CDR2 dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VL3-CDR2 de SEQ ID NO : 22 ;
- VL-CDR3 dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VL3-CDR3 de SEQ ID NO : 24 ; et
- 15 - VL-CDR1 dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VL3-CDR1 de SEQ ID NO : 20 ou dont la séquence d'acides aminés est Effi3-VL4-CDR1 de SEQ ID NO : 26,
- dans lequel l'anticorps ou le fragment de liaison à un antigène de celui-ci se lie spécifiquement au domaine
20 extracellulaire de CD127 humain et n'est pas un antagoniste de CD127.
2. Anticorps ou fragment selon la revendication 1, qui a une ou plusieurs des caractéristiques suivantes :
- 25 - ledit anticorps ou fragment n'inhibe pas la phosphorylation de STAT5 induite par l'IL-7 humaine dans les cellules exprimant l'IL7-R ;
- ledit anticorps ou fragment n'inhibe pas la sécrétion de TARC stimulée par la TSLP dans les cellules exprimant
30 le TSLP-R ;

- 2 -

- ledit anticorps ou fragment n'est pas un agoniste de CD127 humain ;
- ledit anticorps ou fragment n'augmente pas la phosphorylation induite par l'IL-7 humaine de STAT5 dans
5 les cellules exprimant l'IL7-R ;
- ledit anticorps ou fragment n'augmente pas la sécrétion de TARC stimulée par la TSLP dans des cellules exprimant le TSLP-R.

10

3. Anticorps ou un fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon la revendication 1 ou 2, dans lequel ledit anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci comprend une chaîne lourde et une chaîne légère dans
15 lequel :

- la chaîne lourde comprend la VH-CRD1 de la séquence SEQ ID NO : 14, la VH-CDR2 de la séquence SEQ ID NO : 16, la VH-CDR3 de la séquence SEQ ID NO : 18, et
- la chaîne légère comprend la VL-CDR1 de la séquence SEQ
20 ID NO : 20 ou 26, la VL-CDR2 de la séquence SEQ ID NO : 22, la VL-CDR3 de la séquence SEQ ID NO : 24.

4. Anticorps ou fragment de liaison à un antigène de
25 celui-ci selon la revendication 3 dans lequel la chaîne lourde et/ou la chaîne légère comprennent dans leurs charpentes un ou plusieurs des résidus d'acides aminés suivants, et en particulier la totalité des résidus d'acides aminés suivants au niveau de positions
30 identifiées par rapport à la numérotation de Kabat :

- dans la séquence VH : en position 3 un résidu Q, en position 15 un résidu G, en position 16 un résidu G, en position 21 un résidu T, en position 80 un résidu T, en position 87 un résidu S, en position 91 un résidu E, en
35 position 95 un résidu T, en position 118 un résidu L, et/ou
- dans la séquence VL : en position 7 un résidu S, en position 9 un résidu S, en position 11 un résidu L, en position 12 un résidu P, en position 18 un résidu P, en

position 47 un résidu Q, en position 50 un résidu K, en position 68 un résidu S, en position 73 un résidu G ou un résidu E, de préférence un résidu E, en position 82 un résidu R, en position 85 un résidu A, en position 90
5 un résidu T.

5. Anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon la revendication 3 ou la revendication 4
10 qui comprend :

- (i) une chaîne lourde et une chaîne légère dans lequel la chaîne légère comprend la VL4-CDR1 de SEQ ID NO : 26 et a un résidu d'acide aminé en position 73 qui est un résidu G ou
- 15 (ii) une chaîne lourde et une chaîne légère dans lequel la chaîne légère comprend la VL3-CDR1 de SEQ ID NO : 20 et a un résidu d'acide aminé en position 73 qui est un résidu E.

20 6. Anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon la revendication 4 dans lequel la chaîne lourde et/ou la chaîne légère comprennent dans leurs charpentes tous les résidus d'acides aminés suivants :

- 25 - dans la séquence VH : en position 3 un résidu Q, en position 15 un résidu G, en position 16 un résidu G, en position 21 un résidu T, en position 80 un résidu T, en position 87 un résidu S, en position 91 un résidu E, en position 95 un résidu T, en position 118 un résidu L,
30 et/ou
- dans la séquence VL : en position 7 un résidu S, en position 9 un résidu S, en position 11 un résidu L, en position 12 un résidu P, en position 18 un résidu P, en position 47 un résidu Q, en position 50 un résidu K, en
35 position 68 un résidu S, en position 73 un résidu E, en position 82 un résidu R, en position 85 un résidu A, en position 90 un résidu T.

7. Anticorps ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, qui comprend ou est constitué par :

- une chaîne lourde comprenant ou constituée par la séquence d'Effi3-VH3 dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 2 ; et
- une chaîne légère comprenant ou constituée par la séquence d'Effi3-VL3 dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 4 ou la séquence d'Effi3-VL4 dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 6.

8. Anticorps ou fragment de liaison à l'antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, qui a une activité cytotoxique, en particulier une activité ADCC, sur des cellules CD127 positives, notamment sur des cellules CD127 positives humaines, et facultativement après la liaison dudit anticorps ou fragment de liaison à un anticorps de celui-ci à CD127 recrute des cellules immunitaires effectrices exprimant des récepteurs Fc, ledit recrutement étant Fc dépendant.

9. Fragment de liaison à un antigène d'un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 qui est l'un des fragments suivants :

- un fragment Fv constitué par les chaînes VL et VH associées ensemble par des interactions hydrophobes ;
- un fragment dsFv, dans lequel l'hétérodimère VH:VL est stabilisé par une liaison disulfure ;
- un fragment scFv, dans lequel les chaînes VL et VH sont reliées l'une à l'autre via un lieur peptidique flexible formant ainsi une protéine à chaîne unique ;
- un fragment Fab qui est un fragment monomère comprenant la totalité de la chaîne L, et un fragment VH-CH1 de la chaîne H, liés ensemble par une liaison disulfure ;
- un fragment Fab' ;

- un fragment F(ab')₂ qui comprend deux fragments Fab', et en outre une partie de la région charnière d'un anticorps.

5

10. Anticorps ou un fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 qui reconnaît un polypeptide constitué par ou comprenant l'épitope avec la séquence de SEQ ID NO : 55 et est
10 facultativement dirigé contre ledit polypeptide.

11. Anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, dans lequel ledit anticorps est un anticorps monoclonal humanisé, qui comprend ou est constitué par :
15 - une chaîne lourde comprenant la région constante d'IgG1m-E333A dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 28, en particulier une chaîne lourde d'Effi3-VH3-IgG1m-E333A dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 42 et
20 - une chaîne légère comprenant la région constante de CLkappa dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 34, en particulier une chaîne légère d'Effi3-VL3-CLkappa dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 50 ou d'Effi3-VL4-CLkappa dont
25 la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 48.

12. Anticorps selon l'une quelconque des revendications
30 1 à 11, dans lequel ledit anticorps est un anticorps monoclonal humanisé, qui comprend ou est constitué par :
- une chaîne lourde comprenant la région constante d'IgG4m-S228P dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 30, ou la région constante d'IgG2b
35 dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 32 et
une chaîne légère comprenant la région constante de CLkappa dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 34 ou la séquence constante de CLlambda

dont la séquence d'acides aminés est la séquence de SEQ ID NO : 36.

13. Molécule chimérique comprenant un anticorps ou un
5 fragment de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, qui est une molécule complexe ayant une pluralité de domaines fonctionnels qui fournissent collectivement les fonctions de reconnaissance, liaison, ancrage, signalisation à ladite
10 molécule, en particulier ladite molécule complexe étant un récepteur antigénique chimérique (CAR) comprenant :
(i) un ectodomaine qui provient d'un fragment scFv dudit anticorps ou d'un fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à
15 12,
(ii) un domaine transmembranaire pour l'ancrage dans une membrane cellulaire, et
(iii) un endodomaine qui comprend au moins un domaine de signalisation intracellulaire,
20 (i), (ii) et (iii) étant une ou plusieurs molécules recombinantes associées, en particulier une ou plusieurs protéine(s) de fusion.

14. Récepteur antigénique chimérique selon la
25 revendication 13, qui comprend au moins 2, avantageusement au moins 3 domaines de signalisation dans lequel les domaines de signalisation permettent collectivement au moins l'une des propriétés suivantes :
- initiation de l'activation des lymphocytes T, par
30 exemple fournie par le domaine cytoplasmique des CD3 ζ ,
- cytotoxicité médiée par les lymphocytes T,
- amplification du signal d'activation des lymphocytes T ou costimulation dudit signal, par exemple fournie par des éléments de costimulation dérivés de récepteurs tels
35 que 4-1BB, CD28 ou ICOS ou OX40.

15. Polynucléotide, en particulier un polynucléotide isolé, codant pour un anticorps ou un fragment de liaison

à un antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, en particulier un vecteur comprenant en tant qu'insert, un polynucléotide codant pour un anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une
5 quelconque des revendications 1 à 12.

16. Polynucléotide selon la revendication 15, comprenant les séquences de SEQ ID NO : 13, 15, 17, 19, 21 et 23, ou les séquences de SEQ ID NO : 13, 15, 17, 25, 21 et 23,
10 en particulier comprenant les séquences de SEQ ID NO : 1 et 3 ou les séquences de SEQ ID NO : 1 et 5, en particulier comprenant les séquences de SEQ ID NO : 41 et 47 ou les séquences de SEQ ID NO : 41 et 49.

15 17. Cellule comprenant un anticorps ou un fragment de liaison à un antigène selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou une molécule chimérique selon la revendication 13, ou un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, ou un
20 polynucléotide selon la revendication 15 ou 16, en particulier un lymphocyte T.

18. Procédé de préparation d'un récepteur antigénique chimérique (CAR) qui comprend les étapes suivantes :
25 a. fourniture d'un polynucléotide codant pour un anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, en particulier un fragment scFv,
b. recombinaison dudit polynucléotide de a) au niveau de
30 son extrémité C-terminale avec des polynucléotides codant de l'extrémité N-terminale à l'extrémité C-terminale pour un domaine transmembranaire et au moins un, en particulier deux domaine(s) de signalisation intracellulaire(s) adapté(s) à fournir un (des) signal
35 (signaux) de stimulation à une cellule, en particulier à un lymphocyte T, plus particulièrement un lymphocyte T humain,

c. expression de la molécule recombinante obtenue à l'étape b) dans une cellule, notamment dans un lymphocyte T, plus particulièrement un lymphocyte T humain,
d. sélection du récepteur antigénique chimérique produit
5 pour ses propriétés après la mise en contact de celui-ci avec une cellule exprimant le CD127 humain.

19. Composition pharmaceutique qui comprend en tant que
10 principe actif, un anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, une molécule chimérique selon la revendication 13, un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, une cellule selon la
15 revendication 17 ou un polynucléotide selon la revendication 15 ou 16.

20. Moyen thérapeutique de combinaison, en particulier un produit de combinaison, comprenant au tant que
20 principes actifs :

- un anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, une molécule chimérique selon la revendication 13, un récepteur antigénique chimérique selon la
25 revendication 14, une cellule selon la revendication 17 ou un polynucléotide selon la revendication 15 ou 16 et,
- au moins un autre agent thérapeutique sélectionné dans le groupe constitué par des agents chimiothérapeutiques, des agents radiothérapeutiques, des agents chirurgicaux,
30 des agents immunothérapeutiques, des probiotiques et des antibiotiques,

dans lequel lesdits principes actifs sont formulés pour une thérapie séparée, simultanée, ou de combinaison, en particulier pour une utilisation combinée ou
35 séquentielle.

21. Produit de combinaison selon la revendication 20 qui est adapté pour une administration à un patient humain le nécessitant, et qui comprend en tant qu'ingrédients

actifs : (i) un anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, une molécule chimérique selon la revendication 13, un récepteur antigénique chimérique
5 selon la revendication 14, une cellule selon la revendication 17 ou un polynucléotide selon la revendication 15 ou 16, et (ii) un agent immunothérapeutique supplémentaire, en particulier un agent immunothérapeutique impliquant des lymphocytes T,
10 par exemple un lymphocyte T portant une molécule CAR telle que définie dans la revendication 13 ou 14 ou une molécule CAR ciblant un récepteur cellulaire ou un antigène tel que, CD19, CD20, CD52 ou Her2.

15 22. Anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, une molécule chimérique selon la revendication 13, un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, une cellule selon la revendication 17
20 ou un polynucléotide selon la revendication 15 ou 16, pour son utilisation en tant que médicament.

23. Anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à
25 12, une molécule chimérique selon la revendication 13, un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, un polynucléotide selon la revendication 15 ou 16, une cellule selon la revendication 17, une composition pharmaceutique selon
30 la revendication 19, ou le moyen thérapeutique de combinaison selon la revendication 20 ou 21, pour son utilisation dans le traitement du cancer, en particulier d'un cancer associé à une cellule CD127+, plus particulièrement d'un cancer lié à la prolifération de
35 cellules CD127 positives et/ou à une infiltration de cellules CD127 positives.

24. Anticorps ou fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à

12, une molécule chimérique selon la revendication 13, un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, ou un polynucléotide selon la revendication 15 ou 16, ou une cellule selon la revendication 17 pour son utilisation selon la revendication 23 dans le traitement d'un cancer sélectionné dans le groupe constitué par un cancer du sein, un cancer du rein, un cancer de la vessie, un cancer du poumon, un cancer du pancréas, ou pour le traitement d'un lymphome cutané à lymphocytes T, par exemple le lymphome de Sézary, ou pour le traitement d'une leucémie lymphoblastoïde aiguë avec mutation de gain de la voie de l'IL7-/TSLP et un mésothéliome.

25. Procédé de fabrication d'un anticorps selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 comprenant l'immunisation d'un animal non humain, en particulier d'un mammifère non humain, contre un polypeptide constitué par l'épitope avec la séquence de SEQ ID NO : 55 et en particulier la collecte du sérum résultant dudit animal non humain immunisé pour obtenir des anticorps dirigés contre ledit polypeptide, dans lequel le procédé comprend en outre l'étape consistant à sélectionner un anticorps qui se lie spécifiquement au domaine extracellulaire de CD127 et qui présente au moins l'une des propriétés suivantes :

- il n'est pas un antagoniste de CD127 et il n'inhibe pas la phosphorylation de STAT5 induite par l'IL-7 dans des cellules exprimant l'IL7-R et/ou,
- il n'inhibe pas la sécrétion de TARC stimulée par la TSLP dans des cellules exprimant le TSLP-R et/ou,
- il n'augmente pas la phosphorylation de STAT5 induite par l'IL-7 dans les cellules exprimant l'IL7-R et/ou
- il n'augmente pas la sécrétion de TARC stimulée par la TSLP dans les cellules exprimant le TSLP-R.

26. Procédé selon la revendication 25, dans lequel l'anticorps a les propriétés suivantes :

- il se lie spécifiquement au domaine extracellulaire de CD127 et
- il n'est pas un antagoniste de CD127 et
- il n'inhibe pas la phosphorylation de STAT5 induite par l'IL-7 dans les cellules exprimant l'IL7-R et
- il n'inhibe pas la sécrétion de TARC stimulée par la TSLP dans les cellules exprimant le TSLP-R et
- il n'est pas un agoniste de CD127 et,
- il n'augmente pas la phosphorylation de STAT5 induite par l'IL-7 dans les cellules exprimant l'IL7-R et
- il n'augmente pas la sécrétion de TARC stimulée par la TSLP dans les cellules exprimant le TSLP-R.

27. Procédé in vitro ou ex vivo de diagnostic, en particulier un procédé de diagnostic adapté pour son utilisation en médecine personnalisée, plus particulièrement dans un diagnostic compagnon, dans lequel un anticorps anti-CD127 ou un fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou une molécule chimérique selon la revendication 13 ou un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14 est utilisé pour la détection de cellules CD127+ dans un échantillon préalablement obtenu d'un sujet et facultativement pour la quantification de l'expression de CD127.

28. Utilisation d'un anticorps anti-CD127 ou d'un fragment de liaison à un antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou une molécule chimérique selon la revendication 13 ou un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, dans la fabrication d'un médicament adapté pour son utilisation dans un test de diagnostic, en particulier pour son utilisation en médecine personnalisée, ou dans un test de diagnostic compagnon.

29. Procédé de détermination in vitro ou ex vivo de la présence de cellules CD127+ dans un échantillon

préalablement obtenu d'un sujet qui comprend la détermination de la présence de cellules CD127 en tant que biomarqueur qui est prédictif de la réponse d'un sujet à un traitement, en particulier d'une réponse d'un
5 sujet qui a été diagnostiqué d'un cancer, dans lequel ledit procédé comprend :

- la détermination du niveau d'expression de CD127 dans un échantillon de tumeur d'un sujet en utilisant un anticorps anti-CD127 ou un fragment de liaison à un
10 antigène de celui-ci selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 ou une molécule chimérique selon la revendication 13 ou un récepteur antigénique chimérique selon la revendication 14, et

- la comparaison du niveau de CD127 à une valeur
15 représentative d'un niveau d'expression de CD127 dans une population de sujets non répondeurs, dans lequel un niveau d'expression plus élevé de CD127 dans l'échantillon tumoral du sujet indique un sujet qui répondra au traitement.

20