

## Langage scientifique

### Comparaison de l'effet des différents inhibiteurs de Janus kinase sur l'activation, la fonction et la surveillance antitumorale des lymphocytes NK : une étude *ex vivo* et *in vitro*.

Loïc Meudec<sup>1,2</sup>, Pauline Richebé<sup>2</sup>, Juliette Pascaud<sup>1</sup>, Xavier Mariette<sup>1,2</sup>, Gaétane Nocturne<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centre d'Immunologie des Infections Virales et des Maladies Autoimmunes, INSERM UMR 1184, Université Paris-Saclay

<sup>2</sup>AP-HP, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, Paris, France

**Introduction :** Les inhibiteurs de Janus kinase (JAKi) sont des traitements efficaces de la polyarthrite rhumatoïde (PR) représentant une alternative aux biothérapies. Si l'effet indésirable le plus caractéristique décrit avec ces molécules est une majoration du risque de zona, la question d'un risque de cancer se pose, comme pour tout immunosuppresseur. Récemment, l'étude ORAL Surveillance comparant le tofacitinib (TOFA) aux anti-TNF chez des patients PR de plus de cinquante ans présentant au moins un facteur de risque cardiovasculaire a mis en évidence un risque accru de néoplasie, notamment de cancer du poumon et de lymphome<sup>1</sup>. Compte tenu de leur rôle dans la surveillance antitumorale, les lymphocytes NK (Natural Killer) pourraient jouer un rôle causal dans ces effets indésirables.

Notre hypothèse de travail est que les JAKi pourraient favoriser la tumorigenèse en inhibant les lymphocytes NK et que cet impact pourrait varier selon le profil de sélectivité de ces molécules. Notre objectif était ainsi d'évaluer l'impact phénotypique et fonctionnel des JAKi sur les lymphocytes NK, chez les patients PR et *in vitro*.

**Matériel et méthodes :** Nous avons tout d'abord réalisé des analyses phénotypiques *ex vivo* des lymphocytes NK de patients PR traités par TOFA ou baricitinib (BARI), comparés à des patients traités par methotrexate (MTX). Nous avons par la suite cultivé *in vitro* des lymphocytes NK triés de donneurs sains en présence des 4 JAKi [(TOFA, BARI, upadacitinib (UPA) et filgotinib (FILGO)] ou du contrôle DMSO pendant 6 jours. Nous avons exposé les lymphocytes NK à 3 doses différentes afin de mimer l'exposition *in vivo* : nous avons d'abord établi la dose *in vitro* correspondant à la concentration sérique moyenne chez les patients à la dose de l'AMM [concentration thérapeutique (therap)], puis avons encadré cette concentration par une dose plus faible (infra, therap -50%) et une dose plus élevée (supra, therap +50%). Enfin, nous avons évalué *in vitro* la fonction des lymphocytes NK exposés au TOFA et au BARI aux doses therap et supra par crosslinking anti-NKp30 (CD107a, IFN $\gamma$ , TNF) et par des cocultures avec 2 lignées tumorales (CD107a, cytotoxicité) : une lignée de cancer du poumon A549 et une lignée de lymphome SU-DHL-4.

**Résultats :** Nous avons inclus 28 patients PR dans l'essai *ex vivo* : 12 MTX, 10 BARI et 6 TOFA. Les patients traités par JAKi avaient une durée de la maladie plus élevée et au moins un antécédent de traitement par bDMARD. Nous avons retrouvé que les patients traités par TOFA présentaient une expression significativement moindre du marqueur d'activation CD69 sur les lymphocytes NK par rapport aux patients traités par MTX et BARI ( $p < 0,05$ ).

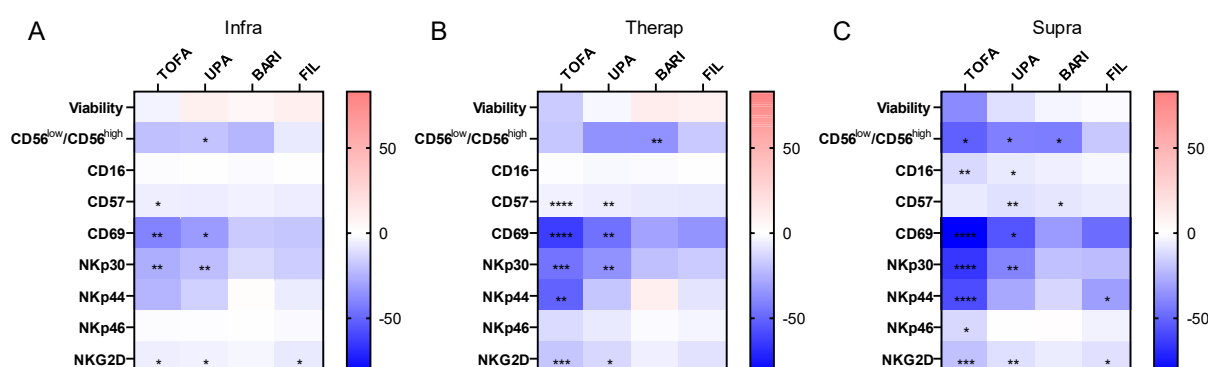
Nous avons ensuite exposé *in vitro* des lymphocytes NK triés de sujets sains aux différents JAKi. Nous avons confirmé l'impact négatif des JAKi sur l'activation (CD69), la maturation (CD57) et l'expression des récepteurs activateurs (NKp30, NKG2D) des lymphocytes NK, plus prononcé avec le TOFA et

l'UPA. Il existait un effet dose avec toutes les molécules (Figure 1).

Après stimulation par NKp30, les lymphocytes NK exposés aux JAKi exprimaient moins d'IFN $\gamma$ , de TNF et de CD107a par rapport à la condition DMSO ( $p < 0,01$ ). Lorsque les lymphocytes NK étaient mis en culture avec les lignées tumorales, l'exposition préalable aux JAKi entraînait une réduction significative de leur expression de CD107a ( $p < 0,05$ ) et de leur cytotoxicité ( $p < 0,05$ ) aux deux concentrations. Le TOFA était le JAKi le plus impactant dans toutes les conditions expérimentales.

Enfin, nous avons observé une forte corrélation entre les marqueurs phénotypiques CD69 et NKp30 et les paramètres fonctionnels dans toutes nos conditions, avec une fonction réduite des lymphocytes NK quand ces paramètres étaient moins exprimés. Ce résultat laisse suggérer que CD69 et NKp30 pourraient représenter des biomarqueurs pertinents de l'inhibition des lymphocytes NK chez les patients exposés aux JAKi.

**Conclusion :** Les JAKi altèrent le phénotype, la fonction et la réponse antitumorale des lymphocytes NK à la fois *ex vivo* et *in vitro*, avec un impact variable selon les molécules. La question reste ouverte concernant le mécanisme responsable du risque de cancer observé dans l'essai ORAL surveillance. Nos données suggèrent de maintenir une surveillance accrue des patients traités par JAKi concernant le risque de cancer.



**Figure 1 : Impact *in vitro* des JAKi sur les lymphocytes NK**

Les lymphocytes NK triés de sujets sains étaient exposés *in vitro* aux 4 JAKi (TOFA, BARI, UPA, FIL) ou au DMSO aux 3 concentrations : infra (A), therap (B) et supra (C). Après 6 jours de culture, un phénotypage était réalisé pour les marqueurs suivants : CD16, CD57, CD69, NKp30, NKp44, NKp46 et NKG2D. Les résultats sont montrés sous forme de heatmap représentant le pourcentage moyen de variation de chaque marqueur comparé au DMSO. Les étoiles correspondent au degré de significativité. Le test statistique de Friedman a été utilisé. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$ , \*\*\*\*:  $p < 0,0001$ .

## Référence

<sup>1</sup> Ytterberg, S. R. et al. Cardiovascular and Cancer Risk with Tofacitinib in Rheumatoid Arthritis. *n engl j med* 11 (2022).