

L'immunité anti-tumorale

1. Caractéristiques principales des cellules tumorales :

Les tumeurs malignes dérivent de la croissance incontrôlée d'un clone de cellules (groupe de cellules qui sont toutes issues d'une seule et unique cellule progénitrice) transformées. Cette prolifération des cellules tumorales, qui est insensible aux mécanismes physiologiques de régulation, est associée à de nombreuses anomalies acquises de leur génome qui touchent les oncogènes et les anti-oncogènes.

Les oncogènes s'expriment dans les cellules normales et leurs produits sont impliqués dans les phénomènes de prolifération cellulaire. Il s'agit d'enzymes (protéines kinases...) impliquées dans la transduction des signaux d'activation, de facteurs de transcription (*c-myc*, *c-fos*...) ou des récepteurs de facteurs de croissance.

À l'inverse, les anti-oncogènes contribuent à réprimer la prolifération et, dans certains cas, la différenciation cellulaire.

Des mutations au niveau de certains oncogènes, qui augmentent leur activité biologique, ou au niveau de certains anti-oncogènes, qui de ce fait sont rendus inactifs, ont été décrites dans différentes tumeurs humaines et peuvent rendre compte de la prolifération incontrôlée des cellules tumorales.

2. Les antigènes tumoraux chez l'homme :

Un antigène de tumeur est représenté par toute structure de la cellule maligne, absente des cellules saines du même tissu au même stade de développement et susceptible d'entraîner une réaction de rejet chez l'hôte. Ces antigènes de tumeurs constituent la cible théorique de la réaction immunitaire anti-tumorale grâce à laquelle l'organisme semble se défendre.

Sur la base de leur distribution tissulaire, on distingue cinq grandes catégories d'antigènes tumoraux :

2.1. Antigènes spécifiques de cellules tumorales dont l'expression est partagée par différents types de cancers:

Ces antigènes encore appelés « antigènes publics » résultent de l'expression d'un gène normalement présent dans le génome, mais qui n'est pas exprimé dans les cellules normales. C'est le cas de la famille des gènes *MAGE*, *BAGE*, *GAGE*, *RAGE* respectivement identifiés dans les mélanomes, les carcinomes de la vessie, de l'estomac ou du rein. Aucune expression des gènes *MAGE* n'est détectable dans les tissus normaux à l'exception des testicules et pour certains gènes *MAGE*, du placenta. Il y a une activation sélective de ce gène dans les cellules tumorales.

On peut également classer dans cette catégorie des antigènes de tumeur partagés par plusieurs types de tumeurs et résultant d'un défaut de glycosylation, dont les plus connus sont les épitopes de la mucine *MUC1*. *MUC1* est une glycoprotéine transmembranaire, glycosylée au niveau de sa région extracellulaire. Dans les tumeurs mammaires, de l'ovaire ou du pancréas, la glycosylation est anormale et les chaînes glycosylées sont plus courtes créant ainsi de nouveaux déterminants antigéniques.

En raison de leur relative spécificité tumorale et de leur fréquence d'expression dans les tumeurs, de nombreux essais cliniques d'immunothérapie ciblant ces antigènes sont en cours de développement

2.2. Antigènes de différenciation :

Ces antigènes sont le produit de gènes de différenciation exprimés de façon limitée par les tissus sains et du fait du nombre important de cellules tumorales, ils sont très exprimés par des tissus cancéreux.

Ils ont été identifiés pour la première fois dans le mélanome, avec des protéines comme le gp100, Melan-A/MART1 et gp75.

On peut également citer dans cette catégorie :

- l'antigène carcinoembryonnaire AEC, une protéine exprimée à certains stades du développement par les cellules normales de l'épithélium colique et que l'on retrouve à la surface de la plupart des tumeurs du tube digestif ;
- l'antigène prostatique PSA ;
- les immunoglobulines de surface exprimées par les lymphocytes B normaux et les proliférations lymphomateuses B monoclonales. Les immunoglobulines à la surface des cellules B tumorales expriment toutes, l'idiotype caractérisant le clone B d'où la prolifération est issue. Dans ce cas, l'idiotype de l'immunoglobuline est donc un antigène de différenciation tout à fait spécifique de la cellule tumorale en question.

2.3. Antigènes exprimés par des cellules normales et surexprimés par les cellules tumorales :

Antigènes protéiques codés par des gènes qui sont sur-exprimés dans les cellules tumorales.

C'est le cas par exemple de la protéine HER-2/neu, produit d'un oncogène, retrouvée à faible densité dans les tissus normaux et surexprimée dans environ 30% des carcinomes du sein et de l'ovaire

2.4. Antigènes issus de mutations :

Les gènes codant ces peptides sont des gènes de protéines ubiquitaires qui subissent des mutations somatiques au niveau des cellules tumorales :

- La mutation qui touche le gène kinase cycline dépendante CDK4, qui favorise une prolifération cellulaire incontrôlée ;
- La mutation du gène de la β -caténine qui stimule la prolifération cellulaire et/ou inhibe l'apoptose ;
- La mutation du gène de la caspase8 (CASP8), une protéase qui est indispensable à l'apoptose induite par la stimulation de récepteurs membranaires tels que Fas ou le récepteur du TNF.

2.5. Antigènes produits d'oncogènes :

Ils sont en général abondamment exprimés par les cellules tumorales et expriment des mutations considérées comme « spécifiques de tumeurs ».

Exemple: la mutation du codon 12 au niveau de l'oncogène K-Ras, retrouvée dans la grande majorité des tumeurs du pancréas.

On citera également les produits de virus oncogènes. Ainsi, dans plus de 90% des cancers du col de l'utérus, on retrouve le papilloma virus humain HPV16.

3. La réponse immunitaire anti-tumorale :

3.1. Les effecteurs de l'immunité innée :

3.1.1. Les cellules NK :

Les cellules NK (Natural Killer) sont les médiateurs de l'immunité anti-tumorale naturelle.

Elles sont capables de lyser in vitro des lignées tumorales exprimant faiblement les molécules HLA de classe I.

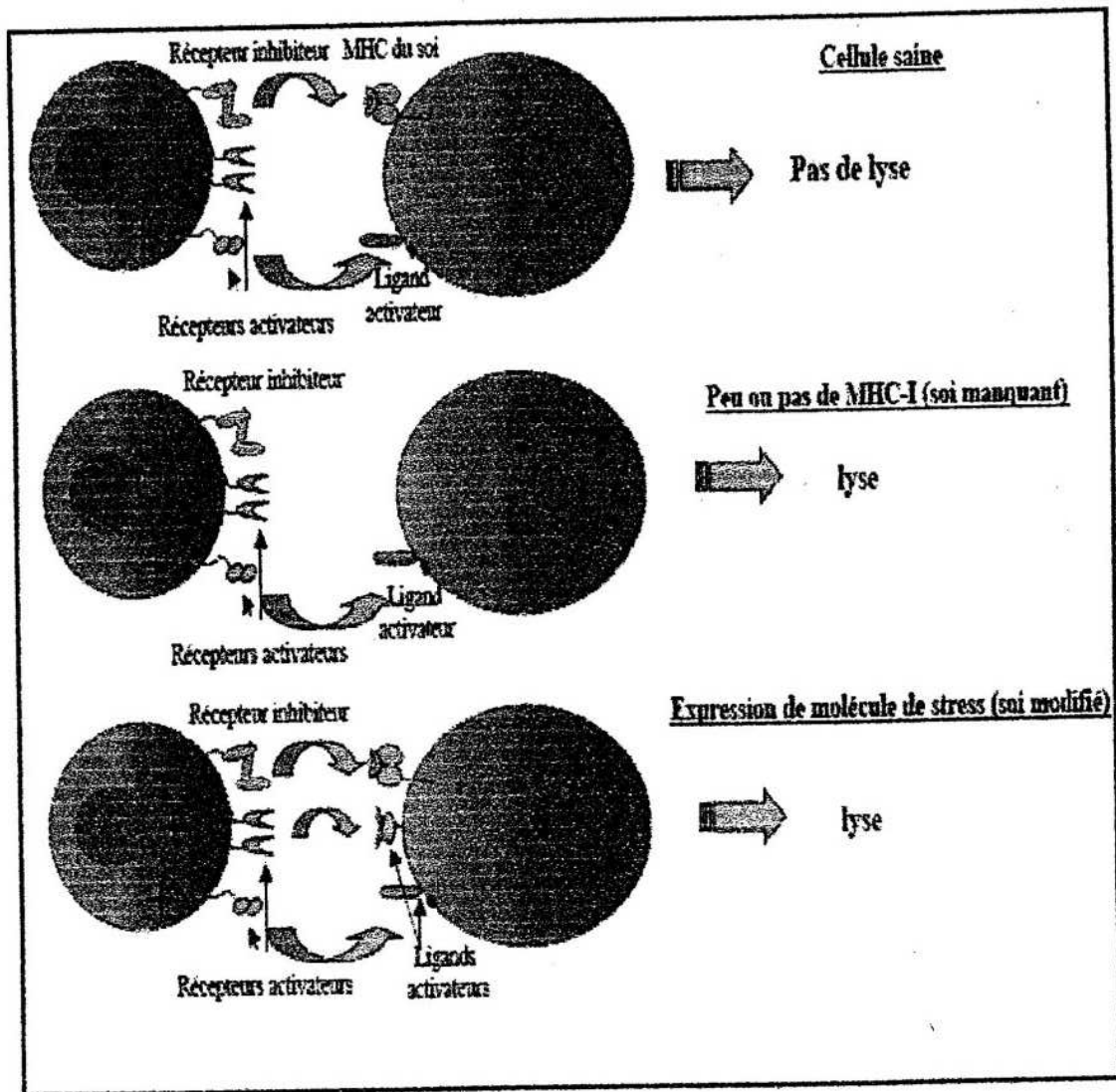
Elles réalisent une **immunité non spécifique** (elles n'expriment pas de TCR à leur surface) et **non HLA restreinte** (elles n'ont pas besoin qu'on leur présente le peptide antigénique).

Leur mode d'action est proche de celui des LT cytotoxiques (intervention des perforine et granzymes).

Elles peuvent aussi détruire des cibles tumorales recouvertes d'anticorps car elles expriment à leur surface un récepteur pour le Fc des IgG : la molécule CD16.

L'action des cellules NK est potentialisée par certaines cytokines: TNF, IL-2 (libérée par les LT CD4) et IL-12 (sécrétée par les macrophages). Cela nécessite l'activation concomitante des LT CD4 et des macrophages.

Le rôle des cellules NK est surtout potentialisé par l'IL-2 : lorsque les cellules NK sont en présence de IL-2, on les appelle cellules LAK (Lymphokine Activated Killer). Ces LAK sont dérivées des TIL lorsque ceux-ci sont cultivés in vitro en présence de forte dose d'IL-2.



3.1.2. Les macrophages :

Les macrophages sont activés *in vitro* par des cytokines ($IFN\gamma$) et des produits d'origine bactérienne (LPS). Ils détruisent alors des cellules tumorales et non pas des cellules normales.

Ils possèdent un récepteur pour le Fc des IgG: ils peuvent donc réaliser une destruction des cellules tumorales recouvertes d'anticorps.

Les mécanismes de défense mise en œuvre par les macrophages sont les suivants :

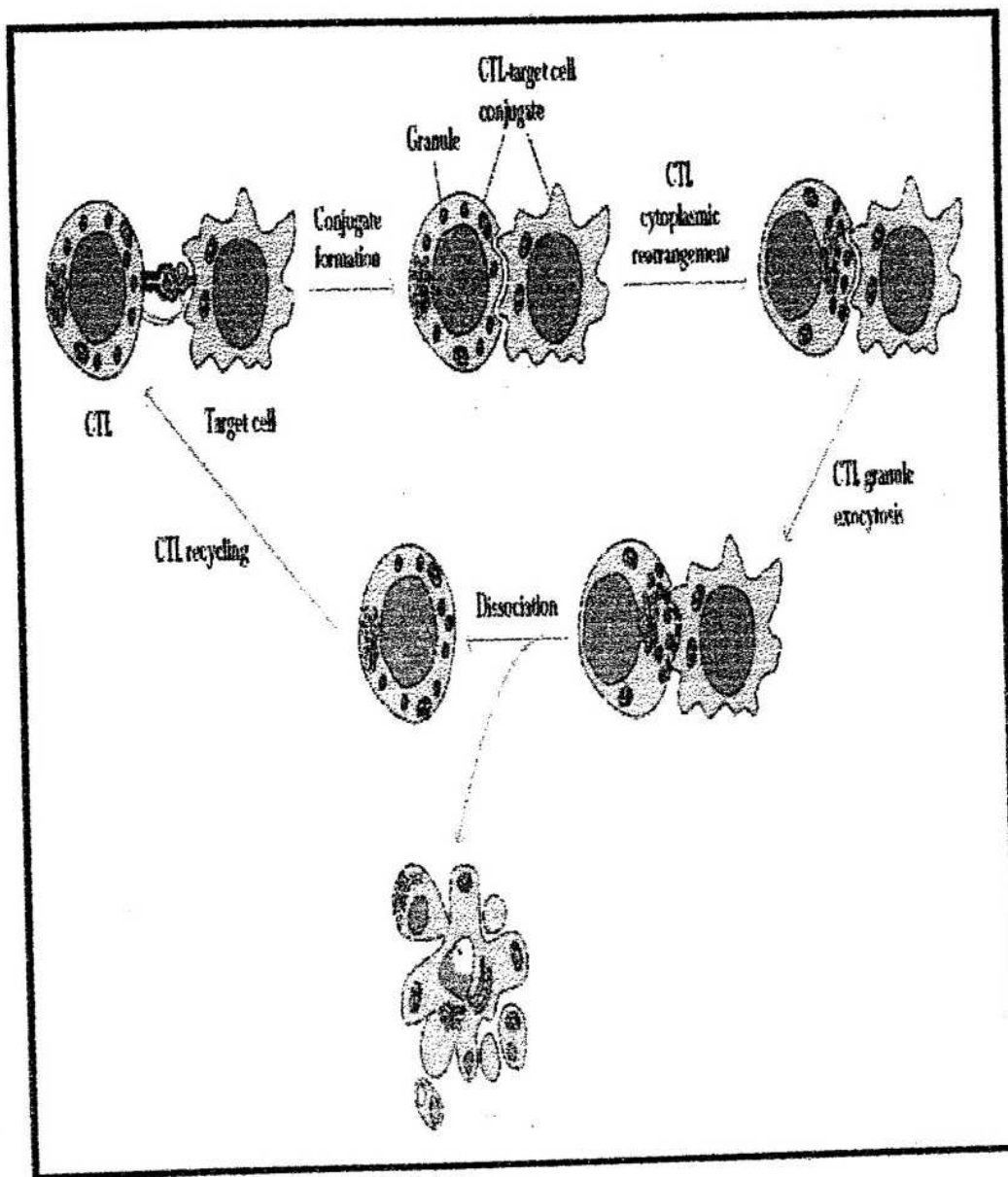
- libération d'enzymes lysosomiaux ;
- synthèse de métabolites oxygénés ;
- sécrétion de TNF.

Ceci entraîne soit une apoptose des cellules tumorales, soit la nécrose de la tumeur par thrombose des vaisseaux

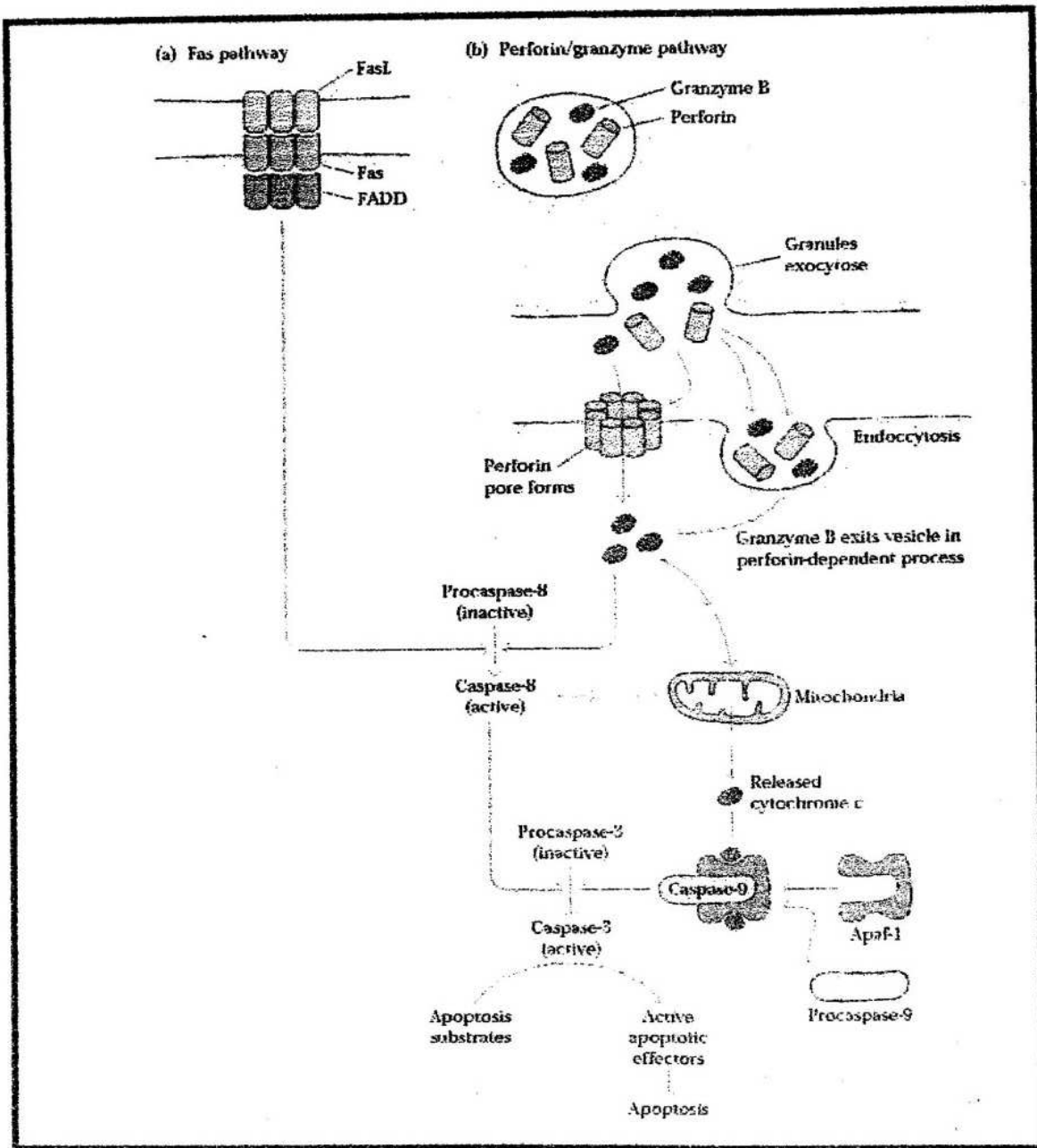
3.2. Les effecteurs de l'immunité spécifique :

3.1.3. Les lymphocytes TCD8+ :

Expriment à leur surface un TCR spécifique d'un peptide tumoral présenté par les molécules HLA de classe I à la surface de la cellule tumorale.



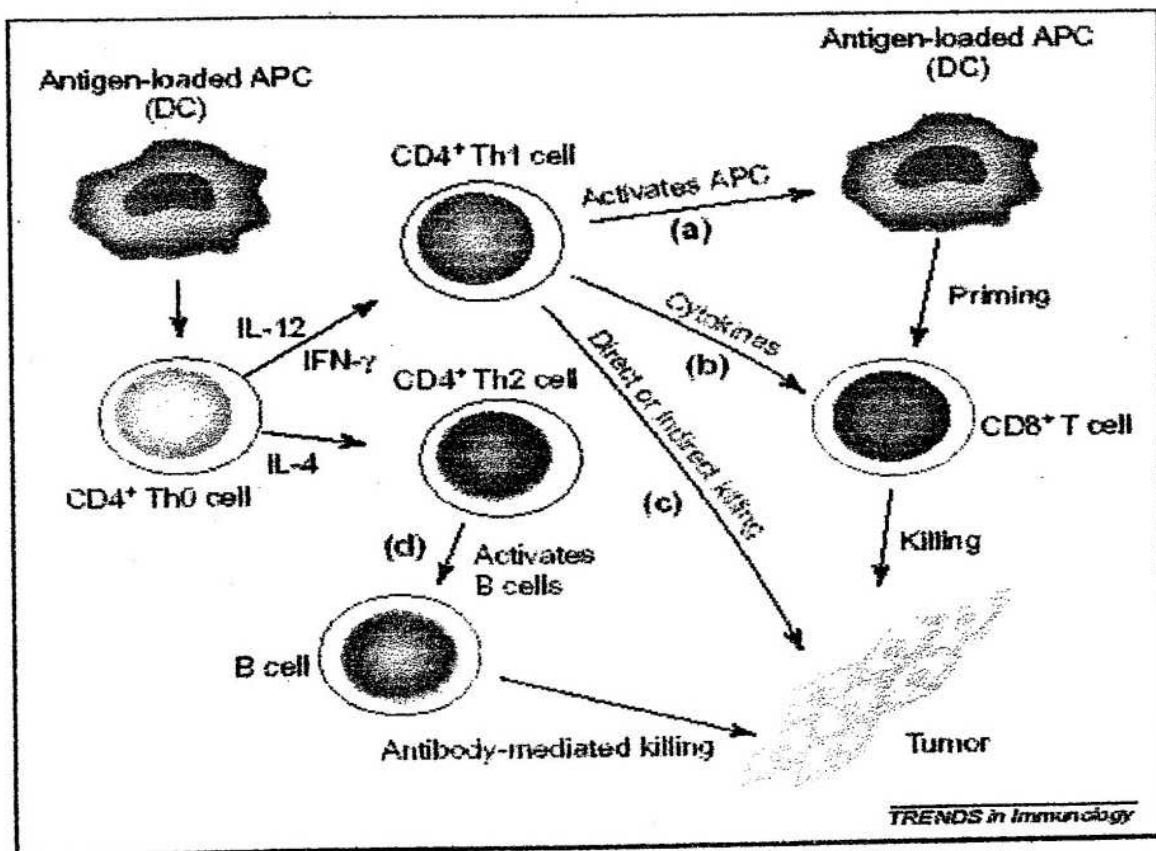
- Les LT détruisent leur cible par deux mécanismes :
- action de la perforine qui lyse la membrane plasmique de la cellule tumorale et des granzymes qui entrent ensuite dans la cellule et la lysent.
 - action des récepteurs de la mort, Fas ligand (FasL) exprimé par le CTL et Fas exprimé par la cellule cible.



3.1.4. Les lymphocytes TCD4⁺ :

L'action des LT CD8 ne permet pas à elle seule l'élimination de la tumeur. Il existe d'autres mécanismes de défense.

Il faut tenir compte du rôle des LT CD4 : ils donnent l'effet helper aux LT CD8 par la production de l'interféron IFN γ et du TNF (Tumor Necrosis Factor) qui augmentent l'expression des molécules HLA de classe I.



3.1.5. Les anticorps :

Des anticorps spécifiques de tumeurs ont été mis en évidence.

In vitro:

- mise en évidence d'un phénomène d'ADCC (Cytotoxicité Cellulaire Anticorps Dépendante)
- il existe aussi une cytotoxicité complément dépendant. Cela favorise l'activité NK et celle des macrophages.

In vivo : le rôle des anticorps reste indéterminé.

4.1. Diminution de l'expression des molécules HLA de classe I :

La perte d'expression sélective d'un allèle HLA de classe I va entraîner une résistance à la lyse par les LT CD8 cytotoxiques.

4.2. Mutations ponctuelles :

Dans les cancers, on a une instabilité génétique : perte de l'antigénicité initiale par mutation.

4.3. Sécrétion de cytokines immuno-suppressives par la tumeur elle-même :

Le TGF β (transforming growth factor) a été détecté dans le surnageant de culture de tumeur. Cette cytokine peut entraîner une suppression de l'immunité cellulaire.

4.4. Absence de molécules de co-stimulation :

Dans la réponse immune, le premier signal est la reconnaissance par le TCR de l'Ag présenté par une cellule présentatrice d'antigènes, mais cela ne suffit pas. Il faut que, sur la cellule présentatrice d'antigène, il y ait une deuxième molécule que l'on appelle la molécule de co-stimulation (la molécule B-7).

L'absence de signal de co-stimulation entraîne une anergie du LT.

4.5. Modulation antigénique par l'anticorps :

La fixation d'anticorps entraîne l'endocytose et la dégradation des antigènes de surface.

4.6. Absence d'expression des molécules HLA de classe II :

Défaut de stimulation des LT CD4 en l'absence de cellules présentatrices professionnelles infiltrant la tumeur (HLA de classe II positives).

4.7. Surexpression des gènes de résistance à l'apoptose

Exemple : bcl2.

5. L'immunothérapie anti-tumorale :

Différentes stratégies d'immunothérapie, visant l'éradication des cellules tumorales, ont été développées au cours des dernières années. On distingue l'immunothérapie passive de l'immunothérapie active.

5.1. L'immunothérapie passive :

Elle concerne l'injection d'anticorps monoclonaux, de cytokines et/ou de cellules autologues

5.1.1. Les cytokines :

a. l'IL-2 :

C'est une cytokine bien connue pour sa capacité à favoriser la prolifération et la différenciation d'effecteurs cytotoxiques spécifiques (LTC₈⁺) et non spécifiques (NK activés en LAK). Elle est administrée seule ou associée à des cellules cytotoxiques autologues, cependant, l'emploi de doses élevées d'IL-2 expose à des effets secondaires parfois sévères. L'IL-2 a obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) dans les cancers du reins.

b. L'IFN α :

L'interféron α stimule le système immunitaire mais peut également agir directement sur la cellule tumorale. Il présente une efficacité remarquable chez les patients atteints de leucémie à tricholeucocytes. Il est également employé dans le sarcome de Kaposi, la leucémie myéloïde chronique et les lymphomes folliculaires.

5.1.2. Les anticorps monoclonaux :

Les anticorps peuvent être utilisés sous leur forme native (anticorps nus) ou couplés à différents agents pour les « armer ».

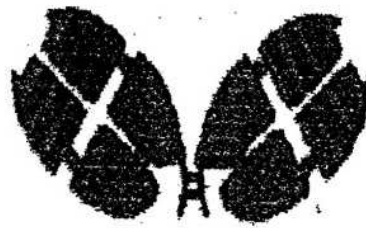
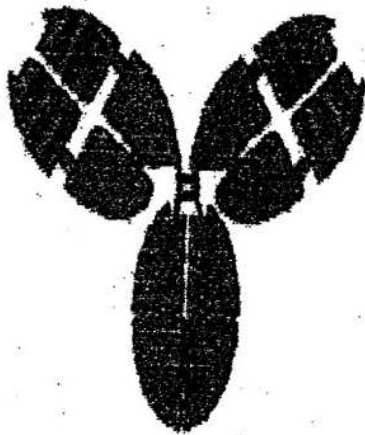
a. Anticorps nus :

Les anticorps monoclonaux utilisés en clinique ont d'abord été d'origine murine. Leur intérêt clinique était faible car ils sont rapidement éliminés par l'organisme.

De plus, ils provoquent la formation d'anticorps humains dirigés contre les immunoglobulines murines (HAMA ou human anti-mouse antibody). À partir de 1984, se sont développés les anticorps chimériques formés par la combinaison de régions variables d'origine murine avec des régions constantes d'origine humaine. Ces anticorps ayant des séquences peptidiques murines plus courtes que les anticorps monoclonaux produits chez la souris, ils sont supposés moins immunogéniques. Diverses études cliniques réalisées avec de tels anticorps chimériques ont montré que cette hypothèse était souvent vraie, mais qu'une administration répétée de ces anticorps pouvait parfois conduire à la présence d'HAMA.

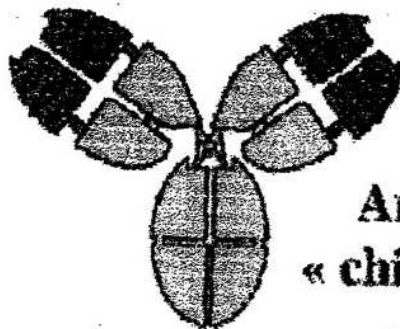
Une nouvelle étape a été franchie avec l'ingénierie d'anticorps humanisés. Cette technique consiste à incorporer des séquences hypervariables d'origine murine entre les séquences des régions variables d'immunoglobulines humaines. Ces séquences hypervariables sont celles qui interagissent préférentiellement avec l'antigène.

L'anticorps humanisé a donc la spécificité recherchée avec une immunogénicité plus faible.

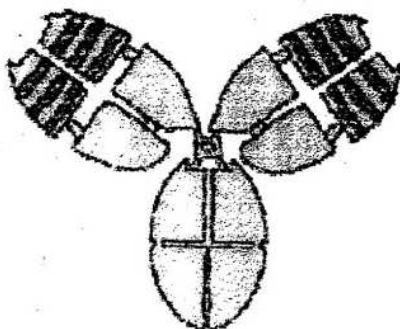


$F(ab')_2$

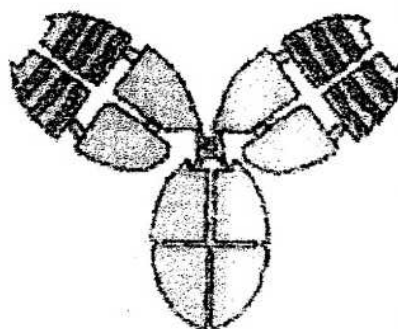
**Anticorps monoclonal
murin**



**Anticorps
« chimérique »**



**Anticorps
« humanisé »**



**Anticorps
humain**

b. Anticorps couplés à un agent :

D'autres techniques d'ingénierie des protéines ou des modifications chimiques ont été utilisées pour « armer » les anticorps avec des toxines (immunotoxines), telles que la toxine diphtérique, l'exotoxine A de *Pseudomonas* ou la ricine A, des isotopes radioactifs (radio-immunoconjugués) tels que l'iode 131 (¹³¹I) ou l'yttrium 90 (⁹⁰Y), des enzymes pour l'activation de prodrugs, des médicaments tels que la doxorubicine ou des cytokines telles que l'IL-2.

Anticorps monoclonaux utilisés en clinique pour le traitement de cancers

Nom	Forme de l'anticorps	Antigène cible	Mécanisme d'action*	Indication clinique**	Date d'utilisation clinique***
Rituximab (Mabthéra®)	IgG1 chimériques	CD20	ADCC, CDC, induction directe de l'apoptose	LNH	Novembre 1997
Trastuzumab (Herceptin®)	IgG1 humanisées	HER2	Inhibition de la prolifération et de la migration cellulaire médiées par HER2	Cancer du sein métastatique	Novembre 1998
Gemtuzumab Ozogamicin (Mylotarg®)	IgG4 humanisées liées à la calichéamycine	CD33	Délivrance de la calichéamycine, inducteur de cassure des brins d'ADN et apoptose	LAM	Mai 2000
Alemtuzumab (Campath®)	IgG1 humanisées	CD52	ADCC, CDC	LLC	Juillet 2001
Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®)	IgG1 murines conjuguées à ⁹⁰ Y	CD20	Délivrance de radiation cytotoxique, ADCC, CDC, apoptose	LNH	Septembre 2002

*ADCC : cytotoxicité cellulaire dépendante d'anticorps ; CDC : cytotoxicité dépendante du complément ; **LNH : lymphome non hodgkinien ; LAM : leucémie aiguë myéloïde ; LLC : leucémie lymphoïde chronique ; ***date d'approbation aux États-Unis par la Food and Drug Administration.

5.1.3. Les cellules autologues :

En partant du principe que les lymphocytes T anti-tumoraux existent chez des patients atteints de tumeurs mais que leur fréquence est souvent faible et leur fonction parfois altérée, différents groupes ont proposé de purifier les lymphocytes T infiltrant ces tumeurs, de les expandre et de les activer *in vitro* en présence de cellules tumorales ou d'antigènes spécifiques de tumeurs, puis de les réinjecter au patient en présence ou non d'IL-2. Ce traitement par des TIL (lymphocytes infiltrant les tumeurs) a permis d'obtenir des résultats cliniquement encourageants chez des patients atteints de mélanomes.

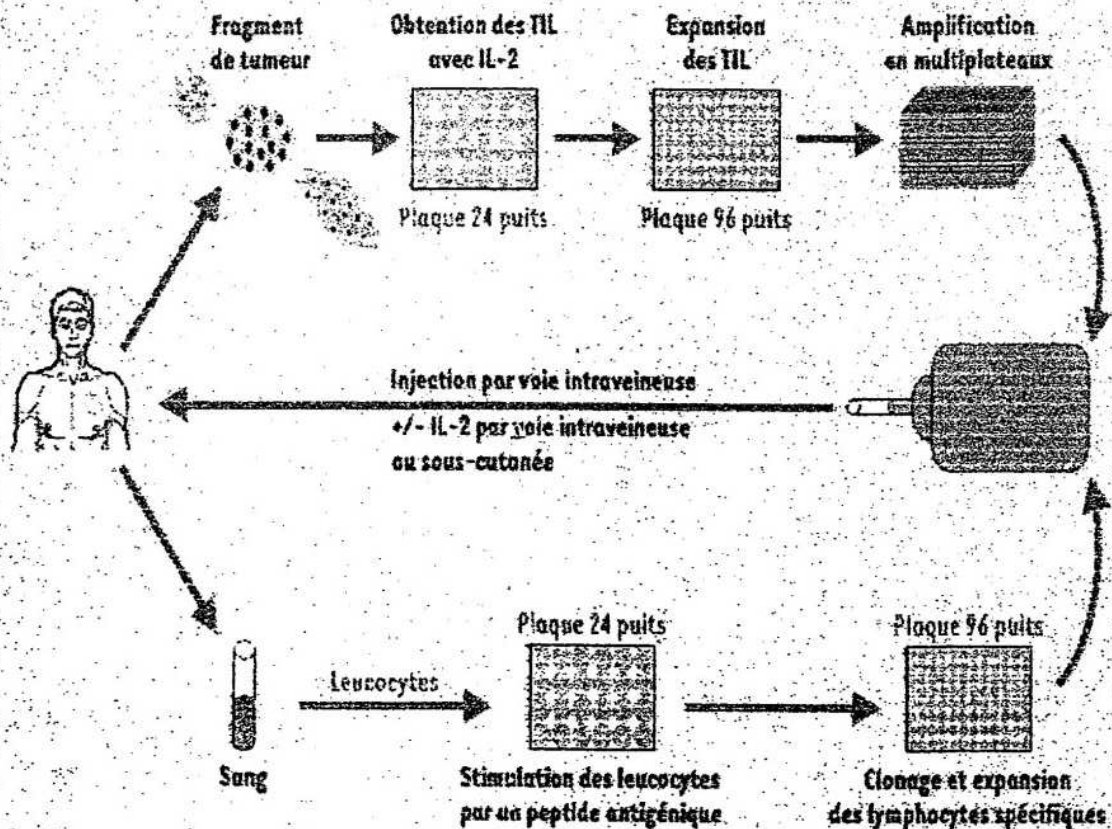


Figure 1. Méthodes d'obtention de lymphocytes T CD8 spécifiques d'antigènes de mélanome pour la réalisation d'immunothérapies adoptives. TIL : tumor infiltrating lymphocytes.

5.2. L'immunothérapie active :

Elle vise à rendre plus efficace la réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis des antigènes tumoraux.

La caractérisation de plus en plus précise des peptides antigéniques reconnus par les cellules T cytotoxiques spécifiques de tumeurs permet d'envisager dans un avenir proche l'utilisation de vaccins permettant d'amplifier la réponse antitumorale de l'hôte.

On peut envisager l'administration des antigènes seuls, sous forme soluble, ou présentés par les cellules dendritiques des patients, ou encore exprimés par des vecteurs viraux ou des vecteurs non réplicatifs ciblant les cellules dendritiques afin d'augmenter leur capacité immunogène.

Ils sont également associés avec d'autres stratégies vaccinales visant à diminuer l'immunosuppression associée au cancer (anticorps anti-CTLA4...)

dans le cadre de la thérapie génique antitumorale, il est possible d'utiliser des vecteurs viraux afin de forcer l'expression au niveau des cellules tumorales, de certaines cytokines ou de molécules de costimulation (molécules de la famille B7) pour stimuler l'immunité antitumorale.