IMMUNOLOGIE - DFGSM3

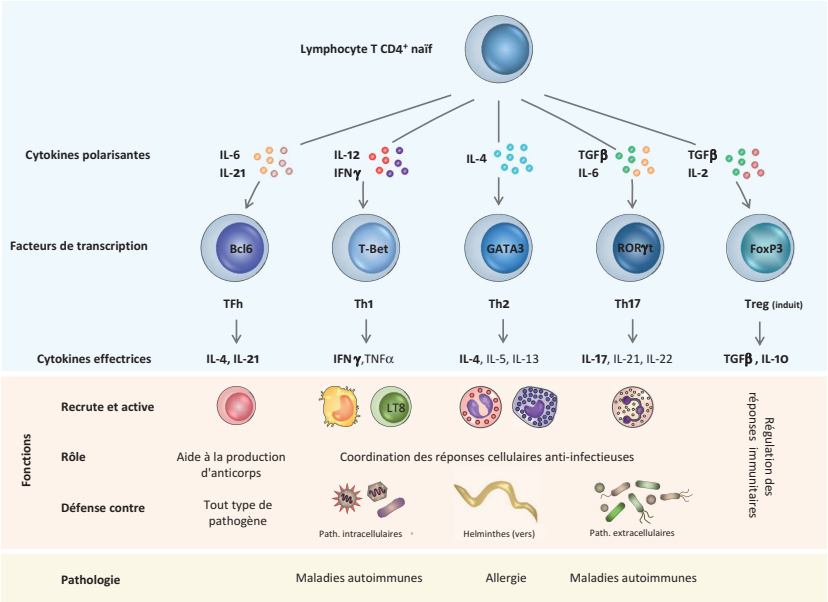
RÉPONSE ANTI-TUMORALE

ET

NOUVELLES IMMUNOTHÉRAPIES ANTI-TUMORALES

(F.LEMOINE)

I. Réponses anti-tumorales

Introduction	
Introduction	- Le système immunitaire joue un rôle majeur dans le contrôle de la prolifération des tumeurs. - Or, les cellules tumorales se développement lentement et ressemblent aux cellules normales de leur tissu d'origine (**soi modifié**). - Elles vont également développer de nombreux mécanismes qui vont leur permettre d'**échapper au système immunitaire** (une approche thérapeutique va consister à contrer ces différents mécanismes).
Cellules immunitaires	Immunité innée - **Macrophages /monocytes :** • Phagocytose (macrophages M1) • ADCC (Antibody-dependant cellular cytotoxicity). - **Cellules NK :** • Lyse tumorale : voie Fas/FasL, TRAIL/TRAIL-R, et perforines/granzymes. • Sécrétions de cytokines. • ADCC (récepteur FcγRIII ou CD16). - **Cellules NKT (cellules T avec un CD3, qui ∈ au complexe TCR, invariant) :** • Sécrétion de cutines et recrutement de cellules. • Destruction de cellules immunosuppressives. • ADCC. - **Cellules dendritiques (DC):** • Présentation antigénique et activation de la réponse T. Immunité adaptative - **Lymphocytes B/plasmocytes :** • Synthèse d'anticorps spécifiques. - **Lymphocytes T CD3+/CD8+ :** • Cytotoxiques : perforines/granzymes. • Apoptose : Fas/FasL. • Sécrétion d'IFN-γ - **Lymphocytes T CD3+/CD4+ :** • Une fois activés, les Lc T se différencient en Lc T helpeur (Th) et selon l'environnement cytokinique et chimiokinique, se polarisent en Th1, Th2, Th17 et Treg (voir rappel).
Schéma polarisation Th	

Rappel activation et polarisation lymphocytes T	- Activation des signaux de danger PAMPS et DAMPS (produits microbiens, réaction inflammatoire, mort cellulaire…) - Reconnaissance et capture d'un antigène étranger et mise en place de l'immunité adaptative. - Le Lc T naïf, qui fait des allés-retours entre les organes lymphoïdes secondaires et le sang, finit par tomber sur une DC (CPA) et va s'activer en <u>3 signaux</u> : **1. Reconnaissance spécifique de l'Ag avec TCR = synapse immunologique** • Formation de la synapse immunologique entre le TCR du LT et le CMH de DC. • Regroupement des molécules de co-stimulation/co-inhibition. **2. Molécules de co-stimulation = prolifération.** • Correspondent au CD28 et CD40L sur le LcT, et CD80/86 et CD40 sur la DC. • Sans **CD28 : anergie**. • Activation de voies de signalisation dont mTOR (mammalian Target Of Rapamycin). • Expression des gènes du cycle cellulaire et de l'IL-2 et IL-2R. **3. Cytokines = prolifération et différenciation.** • Action autocrine de l'IL-2 avec prolifération et expansion clonale. • Polarisation des Lc T CD4+ et acquisition d'un phénotype fonctionnel donné : dépend de l'environnement cytokinique (+++) du type de CPA (si DC alors Th1, si LcB plutôt Th2) et des PRR activés par la CPA. - **<u>Polarisation des Lc T CD4+</u>** • **Trég** ▸ Réprime les réponses T avec IL-10. • **Th17** ▸ Induction de la réponse inflammatoire ▸ Favorise la réponse des neutrophiles. ▸ Réponse contre les bactéries extracellulaires, les champignons et production de peptides microbicides par les cellules épithéliales (intestins++). • **Th1**: ▸ Activation des macrophages et induction de la réponse Lc T CD8 cytotoxique. ▸ Réponse contre les bactéries intracellulaires et les virus. • **Th2 :** ▸ Induction de la réponse B humorale. ▸ Sécrète de l'IFN-γ ++ ▸ Favorise la production d'Ac IgE++ : réponses contre les helminthes, autres parasites et bactéries extracellulaires. • **Tfh** : *participe entre autres à la génération de cellules B mémoires.*
Contrôle de la réponse	- L'activation des lymphocytes T doit être contrôlée de façon à ce que la réponse produite soit proportionnelle au pathogène. - Expression de molécules inhibitrices à la surface des Lc T = **checkpoints immunitaires** : • **PD-1** (*Programmed Cell Death-1*). • **CTLA-4** (*Cytotoxic T Lymphocyte Antigen*). • **TIM3** (*T-cell Immunoglobulin domain and Mucin domain 3*). - Ligands sur les cellules cibles ou CPA. - Rôle de régulation de la réponse T.

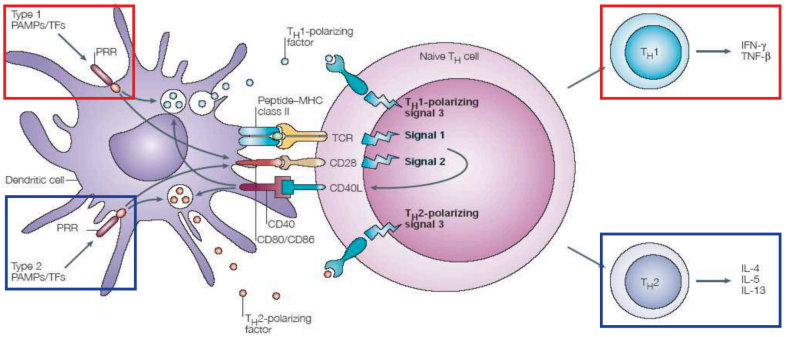
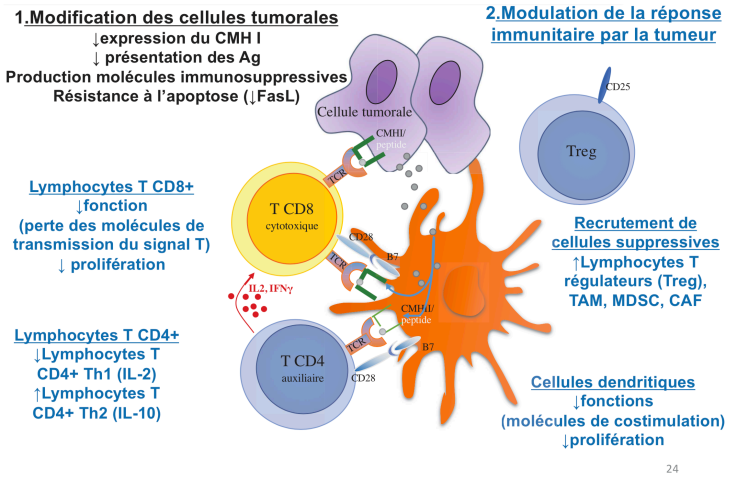


Figure 1 | **T-cell stimulation and T helper 1 (T_H1)/T_H2-cell polarization require three dendritic cell-derived signals.**

Martien L. Kapsenberg 984 | DECEMBER 2003 | NATURE REVIEWS | IMMUNOLOGY

Réponse anti-tumorale	
Introduction	- Plusieurs facteurs qui vont mener à une reconnaissance ou un échappement tumoral. - Sécrétion TAA - Induction d'une inflammation chronique - Microenvironnement tumoral qui va se modifier qualitativement et quantitativement au cours de l'oncogenèse : avec la présence de cellules de l'immunité réactives, de cellules immunosuppressives et des cellules capables de faciliter la croissance tumorale.
Processus oncogénique	- Processus lent : passe par une phase d'initiation, de promotion et de progression tumorale. - Une cellule, pour une raison ou pour une autre, va voir son ADN muter sans qu'il ne soit réparé. - Ces mutations sont responsables entre autre, au fil du temps, d'une modification de la structure de la cellule, menant à une prolifération cellulaire incontrôlée avec une perte de l'inhibition de contact (croissance tumorale), l'acquisition d'une résistance à l'apoptose et une perte d'adhérence des cellules entre elles (migration cellulaire, métastases).
5 classes de TAA	- Pour ***Tumor Associated Antigen***. - Les cellules tumorales sont des cellules du soi qui ont muté. Elles expriment des oncogènes, dont la transcription/traduction va résulter en l'expression de protéines « antigéniques » : le système immunitaire ne les connait pas et va être capable de réagir contre elles. - Ils peuvent aussi correspondre à des peptides produits par des cellules du soi saines qui n'ont pas été en contact avec le système immunitaire depuis l'embryogenèse, comme les cellules germinales qui sont « séquestrées » par la barrière hémato-testiculaire. - Souvent utilisés comme marqueurs tumoraux. **1) <u>Antigènes du groupe « cancer testis »</u> :** exprimés spécifiquement par le tissu tumoral en dehors d'une expression exotique par les cellules germinales. *(Les possibilités de reconnaissance de ces antigènes exprimés par des cellules germinales par les lymphocytes T (LT) sont très faibles car celles-ci n'expriment pas les molé- cules du Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH))* • Famille MAGE (Melanoma Ag : 75% des mélanomes expriment un Ag MAGE). • BAGE (bladder Ag), GAGE (gastric Ag), RAGE (renal Ag). **2) <u>Antigènes de différenciation</u>** exprimés dans un tissu donnée aussi bien par des cellules normales que par des cellules tumorales correspondantes (+/-) ; *(l'induction de réponses antitumorales dirigées contre ces antigènes expose donc au risque d'auto-immunité)* • Ag spécifiques du tissu et surexprimés dans les tissus cancéreux : tyrosinases (mélanocytes), PDA (prostate).. • Antigènes onco-foetaux = antigènes embryonnaires : ACE (côlon, sein, poumon), alpha-foeto-protéine AFT (intestinal, sein, poumon, hépatocarcinome). **3) <u>Antigènes exprimés uniquement par les cellules tumorales</u> :** peuvent correspondre à : • Des antigènes mutés de protéines cellulaires (Kras, p53 dans plus de 50% des tumeurs, …) • Des idiotypes d'immunoglobulines exprimés spécifiquement par le clone B tumoral, comme dans les lymphomes B. • Des néoantigènes générés à la suite d'une translocation chromosomique t(9-22) dans LMC aboutissant) une activité nouvelle (ex: Bcr-Abl qui code pour une activité tyrosine kinase très importante => prolifération tumorale). **4) Antigènes exprimés par les cellules normales et <u>surexprimées</u> par les cellules tumorales** (Her/neu, Muc 1) **5) <u>Antigènes dérivés d'agents pathogènes</u> :** 15 à 20% des cancers • Virus (papillomavirus et cancer du col de l'utérus ou des voies aéro-digetsives supérieures, virus hépatite B/C et cancer du foie). • Bactéries (*Helicobacter pylori* et cancer de l'estomac) ou parasites.

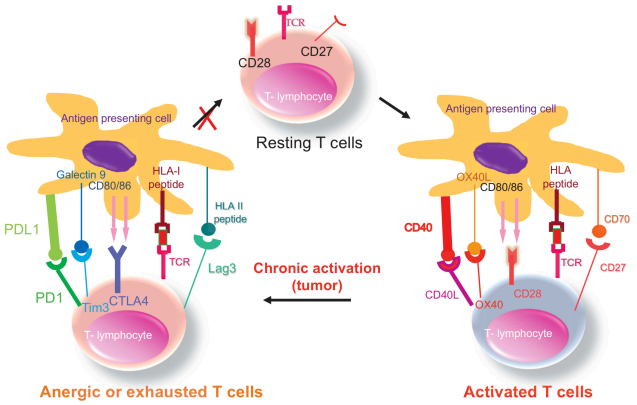
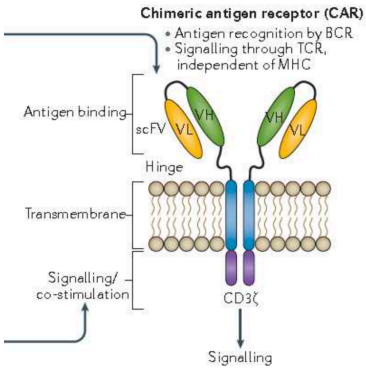
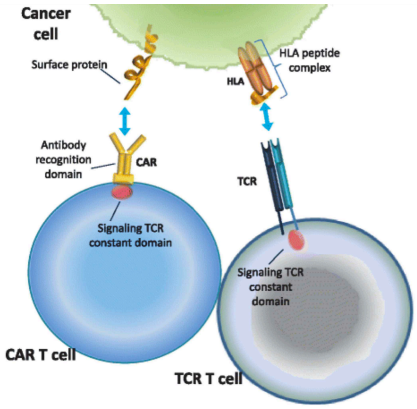
Immunosurveillance et échappement	
Immuno-surveillance *Voir schéma dernière page*	- C'est le processus qui permet au système immunitaire de contrôler, détecter et éliminer les cellules tumorales. - La théorie de l'immunosurveillance est née au début du XXème siècle. Elle repose sur différentes observations dont celles de William B. Coley, un chirurgien orthopédiste américain. Celui-ci avait trouvé une corrélation entre la régression de sarcomes osseux et la survenue de surinfection postopératoire par un streptocoque pathogène responsable d'érysipèle. L'hypothèse avait été émise que la réaction inflammatoire secondaire à la surinfection pouvait aussi contrôler la croissance tumorale. - Aujourd'hui, la **théorie des 3E** proposée par Robert Schreiber, stipule que l'interaction entre le système immunitaire et la cellule tumorale au cours du temps peut conduire : • à l'**É**limination de la tumeur, par un système immunitaire réactif. • à un état d'**É**quilibre, avec maîtrise de la prolifération des cellules tumorales sans éradication. • ou à un **É**chappement de la cellule tumorale au contrôle immunologique, on passe d'un état d'immunosurveillance à celui de **tolérance de la tumeur.** Phase visible en clinique. Ces 3 étapes se succèdent au cours du temps.
Mécanismes d'échappement	 Pour résumer, dans les mécanismes d'échappement de la tumeur, on a : - La **modification des caractéristiques la cellule tumorale (**schéma). - La baisse des réponses des cellules effectrices de l'immunité. - Le recrutement, dans le microenvironnement tumoral… • …de cellules immunosuppressives qui induisent la **tolérance de la tumeur.** • …de cellules tolérogènes qui vont faciliter la **croissance de la tumeur.**
Baisse des réponses des cellules effectrices de l'immunité	
Épuisement des lymphocytes T	- L'activation d'un LT nécessite l'interaction entre son TCR et un complexe CMH-peptide ainsi que la présence d'un deuxième signal délivré par l'interaction entre des molécules de costimulation activatrices et leurs ligands. - Au cours de ce processus d'activation des **molécules de costimulation inhibitrices** (MCI) telles que **PD-1**, **CTLA-4** ou **Tim-3** apparaissent également à la membrane des LT. Leur rôle est de réguler négativement ce phénomène et donc permettre aux LT de revenir au repos après élimination de l'antigène. - En cas de **persistance chronique de l'antigène** comme en situation tumorale, la stimulation chronique du LT conduit à une perte progressive de ses fonctions cytotoxiques et de sécrétion de cytokines. - L'interaction de ces MCI avec leurs ligands (PD-L1, PD-L2, CD80, CD86, galectine 9...), dont certains peuvent être exprimés par les cellules tumorales serait responsable de cet état d'épuisement. - Il a été montré que cet état était réversible après blocage de l'interaction entres les molécules de co-stimulation inhibitrices de la synapse immunologique.

Lc T CD8 et Lc T CD4	- **<u>Lc T CD8</u>**, le plus impliqué dans la réponse antitumorale : • **Cytotoxicité** avec libération de perforine/granzyme. • Induction d'apoptose. • L'infiltration lymphocytaire T-CD8 intratumorale est associé à un bon pronostic clinique dans la majorité des cancers. - **<u>Lc T CD4</u>**, un rôle souvent indirect dans le rejet des tumeurs : • Production de **cytokines Th1 (IL-2, IFN-γ)** qui jouent un rôle essentiel dans l'induction et la persistance des Lc T CD8 anti-tumoraux. • Rôle direct avec l'induction de l'apoptose (Fas/FasL). • Dans certains cas, à l'inverse, un rôle **protumoral** a été assigné à des LT-CD4 de type LT régulateurs ou avec une polarisation cytokinique particulière (Th2, Th17...).
Cellules dendritiques (DC)	- Cellules sentinelles dans les tissus périphériques, décrites dans de nombreux tissus. - Expriment CMH classe I et CMH classe II. - Il existe plusieurs sous-populations de DC : • Les **cellules dendritiques myéloïdes** (mDC) ou **conventionnelles**. • Les cellules **dendritiques plasmacytoïdes** (pDC), faible capacité de phagocytose, plutôt une fonction anti-virale (avec forte production d'INF-γ). - Les **cellules dendritiques conventionnelles** ont une fonction variable selon leur degré de maturité : • <u>Cellules dendritiques **immatures**</u> : ‣ Capturent l'Ag par phagocytose ou endocytose. ‣ Migration vers les ganglions et maturation. • <u>Cellules dendritiques **matures**</u> : ‣ Cellules présentatrices d'antigènes professionnelles. ‣ Activation des lymphocytes T : lien entre le système immunitaire inné et adaptatif. - Quand les signaux de co-stimulation sont altérés ou absents, **anergie des Lc T**. - Une DC immature présente moins bien l'antigène, avec une faible expression des molécules de co-stimulation.
Mini-point sur les cellules NK *(HP)*	- Les cellules NK sont particulièrement efficaces pour lyser des cellules tumorales n'exprimant plus les molécules du CMH de classe I. - Rôle complémentaire à celui des Lc T CD8. - La découverte de récepteurs de type lectine ou appartenant à la famille des KIR (*Killer Immunoglobulin-like Receptor*), dont l'interaction avec les molécules du CMH de classe I délivre un signal inhibiteur aux cellules NK, permet de mieux expliquer cette cytotoxicité augmentée pour leur cible tumorale.
Microenvironnement tumoral	
Cellules immunosuppressives	- **Macrophages associés aux tumeurs (TAMs) :** • Blocage de la prolifération des Lc T CD8+ • Recrutement les Treg. - **Cellules myéloïdes suppressives (MDSCs) :** • Blocage de la prolifération des lymphocytes T. • Recrutement de Treg. - **Lymphocytes T régulateurs (CD4+/FoxP3+) :** • Anergie et apoptose des lymphocytes T. • Apoptose et dérèglement de la fonction de présentation d'antigène des cellules dendritiques. - **Fibroblastes associés aux tumeurs (CAFs)**

Cellules qui facilitent la croissance de la tumeur	- **Fibroblastes associés aux tumeurs (CAFs) :** • Recrutement de cellules immunosuppressives. • Inhibition de la cytotoxicité. • Sécrétion de facteurs immunosuppresseurs/facteurs de croissance (TGF-β, IL-10, VEGF, EGF, PDGF). - **Neutrophiles :** • Facteurs de croissance tumorale/invasion (VEGF, EGF, MMP9…)
Inflammation chronique	- Les **macrophages** et les **neutrophiles tolérogènes** produisent aussi des radicaux libres de l'oxygène qui sont génotoxiques, ainsi que des cytokines et des chimiokines qui amplifient l'inflammation.
Néo-vaisseaux	- Croissance tumorale. - **Anomalie de la diapédèse** : leur **architecture anormale** bloque le passage des effecteurs de l'immunité.

II. Immunothérapies anti-tumorales

Immunothérapies anti-tumorales	
Grandes classes d'immunothérapies	- **Thérapies moléculaires** • Cytokines/chimiokines. • Adjuvants. • Anticorps monoclonaux, dirigées contre un antigène donné. - **Thérapies cellulaires** • Lymphocytes T (effecteurs, régulateurs..) autolologues et allogéniques. • Cellules NK. • Cellules génétiquement modifiées (CAR T-cells, CD34+ cells) - **Vaccins d'origine cellulaire ou génétique** (sont dits **curatifs** et non-prophylaxiques comme on en a l'habitude)
Thérapie moléculaire : exemple des anticorps monoclonaux	
Plusieurs mécanismes d'action	- **Destruction de la cible médiée par les Ac monoclonaux :** • Signaux inducteurs d'apoptose et d'arrêt de croissance cellulaire. • CDC : Complemet dependent cytotoxicity. • ADCC : Antibody-dépendent cell toxicity. • ADP : Antibody-dependent phagocytosis. - **Entrée en compétition avec un récepteur/une molécule (action angoisse ou antagoniste)** • Altération de la signalisation et de la réponse des lymphocytes T. • Réactivation lymphocytaire par blocage des checkpoints immunitaires. - **Neutralisation.**
AcM dirigés contres les immune checkpoints	- Activation chronique des cellules T. - Épuisement des Lc T qui au lieu d'exprimer CD28 expriment **CTLA-4**, et au lieu d'exprimer CD40L expriment **PD1**. • Par contact CTLA4/CD80-86 et PD1/PDL1. - **Immunothérapie** : synthétiser des anticorps monoclonaux (soit anti-PD1, soit anti-PDL1) pour restaurer la fonction des lymphocytes. • Anti-PD1 = Nivolumab. • Anti-CTLA4 = Ipilimumab. - Prix Nobel de médecine et de physiologie 2018 pour Tasuku Honjo (PD-1) et James P. Allison (CTLA-4). - **Révolution thérapeutique** : • Nouvelle approche dans le traitement de nombreux cancers. • Le blocage de l'interaction PD1-PDL-1 a notamment révolutionné le traitement des mélanomes qui jusque là avaient peu d'options thérapeutiques.

Schéma **Epuisement lymphocytaire**	
Autres Ac monoclonaux	- On va aussi utiliser des anticorps monoclonaux qui peuvent soit générer des signaux activateurs de la réponse T, soit bloquer des signaux d'inhibition.
Thérapie cellulaire : exemple des <u>CAR T-cells</u>	
CAR T-cells	- CAR pour *Chimeric antigel receptor.* - Cellules modifiées génétiquement pour pouvoir reconnaître les cellules tumorales. - <u>Principe</u> • Le lymphocyte T reconnaît, grâce à son TCR, un court peptide antigénique présenté par le CMH. • Le lymphocyte B reconnaît, grâce à son BCR, l'antigène sous sa **<u>forme native</u>**. • Or au cours du temps, les cellules tumorales abaissent l'expression à leur surface du CMH : pose des problèmes de reconnaissance et de réponse anti-tumorale. • Le but, ça va être de créer un <u>récepteur hybride</u> (*Chimeric antigen receptor*), composé de la **partie extracellulaire de reconnaissance spécifique du BCR** et de la **partie intracellulaire effectrice du TCR** (CD3ζ) , qui puisse permettre aux lymphocytes T de reconnaitre et agir contre les cellules qui expriment à leur surface l'antigène cible. - Aujourd'hui il existe plusieurs « générations » de Car T-cells, les cellules de 1ère génération composées du CAR seul ayant montré des résultats peu satisfaisaient par rapport à la théorie : • Les CAR T-cells de 2ème et 3èmes générations sont couplées à des **modules de co-stimulation.** • 2ème génération (utilisés++) : **CD28** ou **4-1BB**. • 3ème génération : CD28 et 4-1BB.
Schéma	 
Production des CAR T-cells	- On récupère chez le patient des lymphocytes T. - Mise en culture et introduction d'un vecteur rétro-viral dans lequel on a introduit les gènes d'intérêt. - Intégration dans le génome et production de lymphocytes T qui expriment à leur surface le récepteur chimérique CAR, qu'on ré-injecte dans le patient.

2 AMMs	- **Tisagenlecleucel-T** contre refractory pre-B cell acute lymphoblastic leukemia, young<25 years. - **Axicabtagene ciloleucel** contre refractory diffuse large B cell lymphoma (DLBL).

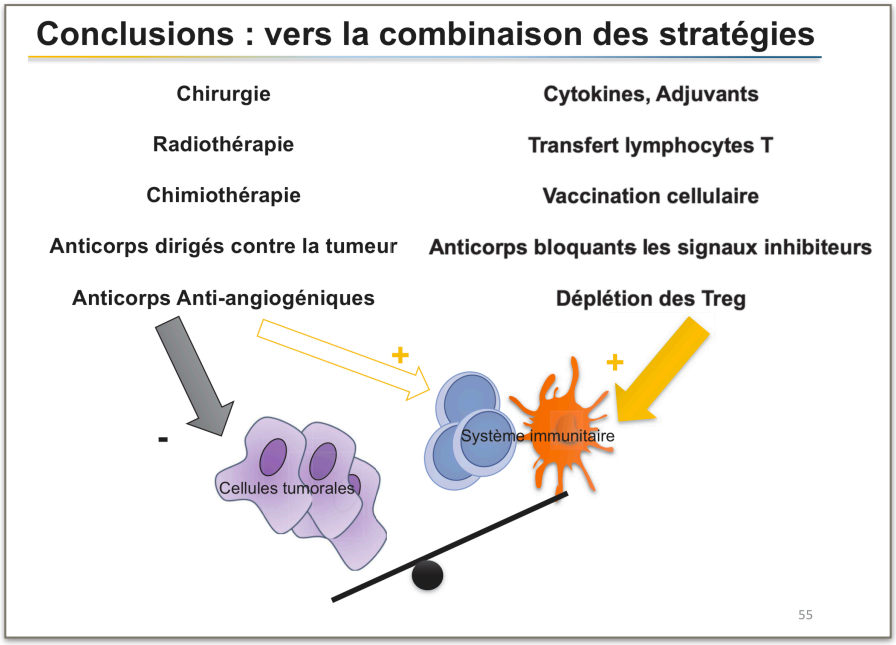
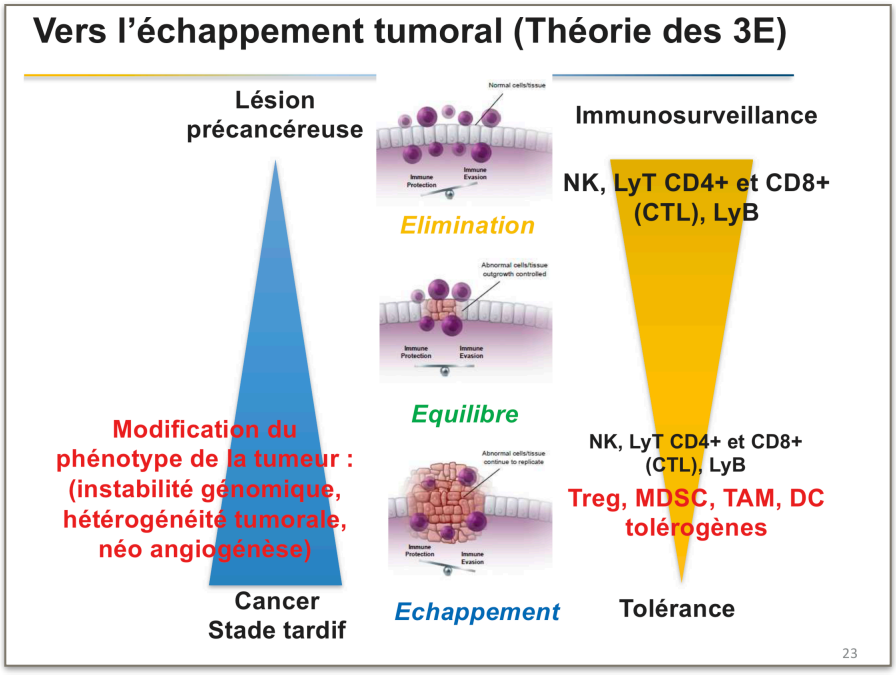



Schéma page 5