



Transversale Santé de Paris Technopole

Synthèse de la Transversales Santé du Mardi 21 novembre 2006

Regards transdisciplinaires et translationnels sur l'immunothérapie

Intervenants : *Hervé Fridman, Jean-François Prost, Pascal Breton, Sébastien Amigorena*

Tirée par la croissance mondiale du marché des anticorps monoclonaux, l'immunothérapie a de nouveau le vent en poupe après des années de désillusions. Stratégie transversale par excellence, elle s'applique à des pathologies variées (maladies infectieuses, cancers...). Translationnelle, elle exige et permet d'étroites collaborations entre explorateurs des mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu par le système immunitaire, médecins et spécialistes du développement industriel de produits dont l'absence de toxicité est toujours un obstacle de taille à surmonter.

→ Des anticorps monoclonaux aux multiples facettes

Les succès des anticorps monoclonaux

Aujourd'hui, les anticorps monoclonaux (AcM) représentent de loin le premier poste de produits biotechnologiques, observe **Hervé Fridman**, professeur à l'université Paris 5, praticien hospitalier (HEGP) et directeur du Centre de recherches des Cordeliers (CRC). Le premier AcM thérapeutique a été utilisé avec succès en 1986 pour le maintien de la greffe de rein (OKT3). Puis le Remicad, un anti-TNF, a eu un certain succès dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. Depuis, c'est surtout la cancérologie qui bénéficie de leur développement.

Les AcM peuvent être dirigés contre des antigènes dits de différenciation (rituximab, un anti-CD20, par exemple), contre des antigènes spécifiques de certaines cellules (antigène carcino-embryonnaire), contre des sucres, des glycolipides, des récepteurs de facteurs de croissance ou contre des molécules du stroma extracellulaire.

Nous ne sommes en fait qu'au « moyen-âge » du développement des AcM. Mieux comprendre leurs mécanismes d'action va permettre d'augmenter leur efficacité. Car faire de meilleurs anticorps monoclonaux, c'est être capable d'utiliser plusieurs de leurs mécanismes d'action.

Les anticorps agissent vraisemblablement par plusieurs mécanismes. Ils peuvent agir directement sur leur cible, par exemple sur un récepteur de facteur de croissance ; d'autres induisent des signaux de mort ou d'arrêt de division de la cellule (herceptine, rituximab, etc.) ; d'autres utilisent des éléments du système immunitaire : certains fixent le complément, une série de protéines plasmatiques qui ont la capacité de détruire la cellule sur laquelle sont fixés ces anticorps.

Le mécanisme d'action majeur des anticorps consiste à se fixer par leur partie constante (Fc) sur les récepteurs Fc présents sur des cellules immunitaires, comme les macrophages et les natural killers. Lorsqu'un anticorps recrute une telle cellule, cela aboutit à la phagocytose ou la destruction de la cellule. Il existe deux types de récepteurs Fc : des « activateurs », qui délivrent un signal d'activation des cellules, et des « inhibiteurs », qui aboutissent à bloquer l'activation cellulaire. Cette distinction est à la base des travaux les plus intéressants d'optimisation des AcM.

Un travail récent du groupe de Jeff Ravetch (Rockefeller Institute) va dans ce sens : si l'on injecte un mélanome à une souris, la tumeur envahit les poumons. Si l'on traite la souris par un AcM anti-mélanome, 90 % des tumeurs pulmonaires disparaissent ; mais chez une souris qui n'a pas de récepteurs activateurs, il n'y a pas d'effet thérapeutique alors que chez une souris qui n'a pas de récepteurs Fc inhibiteurs, l'effet thérapeutique est augmenté. Idéalement, l'AcM thérapeutique devra donc se lier fortement aux récepteurs Fc activateurs et faiblement aux récepteurs inhibiteurs pour traiter un cancer, et l'inverse s'appliquera pour traiter une maladie auto-immune. La structure du récepteur Fc lié à la partie Fc de l'anticorps a été déterminée en 2001 par Catherine Sautès-Fridman et Peter Sun (NIAID, NIH) : l'anticorps apparaît « couché » sur son récepteur ; jouer sur cette interaction va permettre de moduler la capacité du récepteur à se fixer à l'anticorps.

Enfin, le principe d'AcM dirigés contre l'environnement des tumeurs, notamment la néovascularisation, est une piste importante en immunothérapie anticancéreuse. Ainsi, l'Avastin™ (bevacizumab), un AcM visant le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) est commercialisé pour le traitement de tumeurs colorectales et du rein.

En outre, des AcM peuvent moduler la réaction immunitaire en stimulant les lymphocytes T. Deux molécules, un anti-CD28, et un anti-CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4), ont été testées en clinique. La première (TGN 1412 ou SuperMAB) a produit de graves effets secondaires chez six patients lors d'un essai clinique de phase I en Grande-Bretagne. Le groupe de Steven Rosenberg a en revanche obtenu des résultats prometteurs dans le mélanome métastatique après traitement par vaccination associée à l'anticorps anti-CTLA-4.

Le risque est d'induire une auto-immunité majeure. Les AcM sont des outils très spécifiques et actifs, mais plus on les rendra efficaces plus le risque d'engendrer des effets auto-immuns augmentera et devra être contrôlé.

L'optimisation des anticorps thérapeutiques

Jean-François Prost, directeur scientifique du LFB (Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies), qui développe des protéines thérapeutiques, explique les grandes voies d'optimisation des AcM.

D'un point de vue industriel, optimiser les protéines est une nécessité pour réduire la dose thérapeutique et ainsi diminuer les quantités à produire. Il existe trois grandes manières d'optimiser un anticorps. On peut d'abord modifier la structure générale de l'anticorps. Les chercheurs ont ainsi développé des anticorps chimériques (anti-CD20 par exemple) dont la partie Fab, qui interagit avec l'antigène, est la seule qui reste d'origine murine, puis des anticorps humanisés dont seule la partie hypervariable des Fab reste d'origine murine, puis des anticorps totalement humains obtenus par les technologies du « phage display » ou des souris transgéniques humanisées.

Parmi les 23 AcM enregistrés au niveau mondial, un seul est entièrement humain. Néanmoins, il n'est pas certain que la technologie d'humanisation apporte un avantage en terme d'efficacité par rapport aux AcM chimériques.

Deuxième approche d'optimisation : la modification de la région Fab, qui interagit avec l'antigène. Il s'agit de produire des mutations qui vont augmenter l'affinité de l'AcM pour certains épitopes de l'antigène. Mais la dernière approche d'optimisation, l'optimisation de la région d'interaction avec les récepteurs Fc, est celle qui donne les résultats les plus intéressants. On peut sélectionner des anticorps hyperactifs, partir d'un anticorps et provoquer des mutations dirigées pour augmenter son efficacité, ou encore jouer sur la structure secondaire des anticorps, notamment leur glycosylation.

Ainsi, en collaboration avec le Centre des Cordeliers, le LFB a pu montrer que la cytotoxicité d'anticorps anti-CD20 améliorés par réduction de leur charge en fucose (« low fucose ») est supérieure à celle du rituximab (Mabthera) servant de référence sur des cellules de patients atteints de leucémie lymphoïde chronique (LLC-B).

Par ailleurs, en association avec IDM Pharma, le LFB a couplé de tels anticorps optimisés hautement cytotoxiques aux macrophages de patients activés ex vivo. Cette combinaison peut être activée in vivo dès la rencontre des macrophages avec l'antigène de cellules tumorales. Le projet a été labellisé en 2006 par le pôle Medicen sous le nom d'ImmuCan avec d'autres partenaires (Seppic, ShigaMediX, Cancéropôle, Inserm U255, Institut Curie, Universités Paris 5 et Paris 6, CNRS, AP-HP).

Sur l'optimisation de la glycosylation, voir « Optimiser les anticorps : une histoire de sucres »

<http://www.parisdeveloppement.com/la-technopole-parisienne/les-poles-innovants/pole-sante/actualites-du-pole-sante/dossier-cancerologie/optimiser-les-anticorps-une-histoire-de-sucres.html>

➔ Comment manipuler les cellules immunitaires

Les cellules dendritiques

Sébastien Amigorena, directeur de recherches au CNRS, directeur de l'Unité 653 Inserm/Institut Curie « Immunité et cancer », à l'Institut Curie (Paris) présente les mécanismes de la réponse immunitaire par les lymphocytes T. Ces cellules reconnaissent les antigènes seulement lorsque des fragments antigéniques sont associés à des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). La preuve de principe de l'efficacité antitumorale des lymphocytes T a été apportée depuis quatre ans notamment par le groupe de Steven Rosenberg aux Etats-Unis et celui de Brigitte Dréno (Inserm 463, Nantes) en France : le transfert adoptif d'un très grand nombre de lymphocytes cytotoxiques spécifiques d'un antigène de tumeur provoque une réaction antitumorale chez un grand nombre de patients.

La méthode est cependant très lourde et peu applicable en pratique. Une démarche plus réaliste consiste à provoquer la fabrication de lymphocytes antitumeurs par le patient lui-même. Depuis quelques années, on sait que la réponse immunitaire anti-infectieuse ou anti-tumorale n'est pas amorcée par les cellules infectées ou cancéreuses mais par la présentation d'antigènes par des cellules présentatrices professionnelles, notamment les cellules dendritiques. Suit alors l'amplification des lymphocytes spécifiques de ces antigènes (sélection clonale), qui se produit dans les ganglions lymphatiques. Ces ganglions drainent une région tissulaire particulière : ils permettent d'amorcer une réponse contre les antigènes qui se trouvent dans cette région. La stratégie vise donc à amener les antigènes depuis les tissus périphériques jusqu'aux ganglions. C'est là qu'interviennent les cellules dendritiques : présentes dans tous les tissus, elles ingèrent les antigènes et parviennent dans les ganglions lymphatiques où elles présentent les antigènes associés aux molécules du CMH aux lymphocytes T, ce qui déclenche la sélection clonale.

L'approche de base de l'utilisation de ces cellules a consisté à reproduire ce schéma. On isole des précurseurs de cellules dendritiques à partir du sang, des monocytes. Ces cellules sont multipliées et différenciées *in vitro*. On leur donne alors l'antigène (peptide synthétique, extrait de lysat de cellules cibles) puis on les différencie en cellules matures aptes à activer les lymphocytes T ; enfin, on injecte ces cellules au patient (traitement autologue).

Ce type de stratégie a été mené dans le monde sur près de mille patients atteints de cancers avancés, en phase I. Les réponses cliniques ont été très hétérogènes. Des réponses biologiques sont détectables désormais. Il y a alors une corrélation entre réponse immunitaire et évolution clinique, ce qui montre que la stratégie est sur la bonne voie.

Son amélioration viendra d'une meilleure sélection des types de cellules dendritiques utilisés, d'une optimisation de leur charge en antigène, de leur activation (cytokines, ligands divers) et du suivi de la réponse immunitaire.

Les vaccins thérapeutiques anticancéreux

Pascal Breton, responsable du Business Development chez IDM Pharma, à Paris, évoque le développement industriel des vaccins thérapeutiques. Le stade d'avancement de ces vaccins se situe très en amont de celui des anticorps monoclonaux. Cependant, si la France a raté l'ascenseur des AcM, il est fort à parier qu'elle va rater celui des vaccins thérapeutiques, toutes les sociétés impliquées étant étrangères, essentiellement américaines (IDM est devenue américaine en 2005).

Les sociétés de biotechnologies travaillant sur les vaccins thérapeutiques ont connu une longue succession d'échecs en phases cliniques : Dendreon, Biomira (Theratope), Apton (Insegia), CancerVax (Canvaxin)... Des progrès ont été réalisés cependant, notamment dans la compréhension de la réponse immunitaire aux tumeurs et de la réponse innée.

Au niveau clinique, plusieurs sociétés ont annoncé des résultats de phase III, comme Therion (cancer du pancréas). Deux sociétés font l'actualité car elles ont obtenu des résultats de phase III encourageants en terme de survie : Dendreon, qui est en train d'enregistrer un produit à base de cellules dendritiques autologues dans le cancer de la prostate (Provenge) ; IDM Pharma, qui vient de déposer un dossier d'enregistrement pour un activateur de macrophages (le Junovan), un adjuvant destiné au traitement des métastases pulmonaires de l'ostéosarcome. S'ils sont enregistrés, ce seront les deux premiers produits de vaccination thérapeutique anticancéreuse sur le marché.

A noter qu'IDM développe deux produits anticancéreux à base de cellules dendritiques : le Collidem, contre le cancer colorectal (phase I), et l'Uvidem, développé en partenariat avec Sanofi-Aventis pour le traitement du mélanome (phase II).

Quels sont les obstacles au développement des vaccins thérapeutiques ? Le design des essais cliniques pour ce type de produit doit être revu, remarque Pascal Breton. En effet, on ne peut pas espérer voir des effets thérapeutiques de tels vaccins en utilisant les procédures mises en œuvre pour étudier des produits anticancéreux classiques. Ces traitements ont des effets sur le long terme : en jargon, les « end points » des études sont lointains et concernent surtout la survie. Or les « big pharma » étant réticentes à investir dans ce type d'approche, les ressources disponibles sont faibles et l'on tend à monter des études cliniques de courte durée avec des patients à un stade avancé de la maladie, ce qui ne permet pas de juger des effets en termes de survie.

Prochaine transversale Santé

Mardi 12 décembre

Transfert – transfert : de la molécule à la thérapeutique