

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 9 octobre 2015
Par Mme Delpierre Denis Maryll**

Immunothérapie et Cancer

Membres du jury :

Président : Monsieur Jean-Louis Cazin,
Professeur de Pharmacologie et Pharmacie Clinique à la faculté de Pharmacie,
Université de Lille 2
Docteur ès Sciences Pharmaceutiques
Directeur du centre de Pharmacologie et Pharmacie Clinique en Cancérologie
au centre Oscar Lambret de Lille (centre de lutte contre le cancer de la région Nord-
Pas de Calais)
Conseil Ordinal élu à l'Ordre National des Pharmaciens section H

Assesseur : Monsieur Thierry Dine,
Praticien Hospitalier au Centre Hospitalier Loos-Haubourdin
Professeur de Pharmacie clinique à l'Université de droit et santé Lille 2

Membre extérieur : Monsieur Guillaume Landreau,
Docteur en Pharmacie à Hellemmes-Lille



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :	Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents :	Professeur Alain DUROCHER Professeur Régis BORDET Professeur Eric KERCKHOVE Professeur Eric BOULANGER Professeur Frédéric LOBEZ Professeur Damien CUNY Professeur Benoit DEPREZ Professeur Murielle GARCIN Monsieur Pierre RAVAUX Monsieur Larbi AIT-HENNANI Monsieur Antoine HENRY
Directeur Général des Services :	Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :	Professeur Damien CUNY
Vice-Doyen, 1 ^{er} assesseur :	Professeur Bertrand DECAUDIN
Assesseur en charge de la pédagogie	Dr. Annie Standaert
Assesseur en charge de la recherche	Pr. Patricia Melnyk
Assesseur délégué à la scolarité	Dr. Christophe Bochu
Assesseur délégué en charge des relations internationales	Pr. Philippe Chavatte
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante	M. Thomas Morgenroth
Chef des services administratifs :	Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M.	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie

Mme	HOUSSIN-THUILLIER	Pascale	Hématologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DROUET	Maryline	Pharmacie Galénique
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises
dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

REMERCIEMENTS

A Monsieur Jean-Louis Cazin,

Pour avoir accepté de diriger mon travail, pour votre patience, vos conseils et votre disponibilité, et pour m'avoir fait l'honneur d'être le Président de ce jury. Avec tout mon respect et ma plus sincère reconnaissance.

A Monsieur Thierry Dine,

Pour l'intérêt porté à ma thèse et pour avoir accepté de juger mon travail. Avec tout mon respect et ma plus sincère reconnaissance.

A Monsieur Guillaume Landreau,

Pour votre présence parmi ce jury, pour votre gentillesse et votre disponibilité. Ce fut un plaisir de travailler avec vous.

A Maman,

Pour ton soutien et ton amour, merci d'être toujours présente pour moi.

A mon frère Alexandre,

Pour tes encouragements, ton soutien et ton affection.

A mon mari Guillaume,

Pour ta présence, ton soutien de toujours et ton amour.

A Papa,

Pour ton amour, ton aide et tout ce que tu m'as transmis, je garde ça précieusement dans mon cœur. Tu es tous les jours à mes côtés.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	12
CHAPITRE I : Mécanismes généraux de la Réponse Immune et Vaccination.....	13
I – Les Voies de la présentation antigénique.....	14
I – A. Les Molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité.....	14
1. Voie Endogène de présentation sur les molécules du CMH de classe I.....	16
2. Voie Exogène de présentation sur les molécules du CMH de classe II.....	18
3. Présentation croisée ou voie exogène de présentation sur les molécules du CMH de classe I.....	19
I – B. Reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes T.....	20
I – C. Reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes B.....	23
II – Les Réponses Immunitaires de type Th1 et Th2.....	26
II – A. La réponse de type Th1.....	26
II – B. La réponse de type Th2.....	27
III – Les autres cellules effectrices de la Réponse Immunitaire.....	28
III – A. Les cellules NK et NKT.....	28
III – B. Les lymphocytes T régulateurs.....	29
IV – La Vaccination.....	29
CHAPITRE II : Immunité et Cancer.....	31
I – Processus Tumoral.....	31
I – A : Définition d'une cellule cancéreuse.....	31
I – B : Différents types de cancers humains.....	31
I – C : Origine Monoclonale et Génétique.....	32
I – D : Cancérogenèse.....	35
I – E : Néo-angiogenèse.....	37
II – Réponse immunitaire anti-tumorale.....	40
II – A. Réponse immune et cancer.....	40
• Mécanismes inhérents aux cellules tumorales.....	44
• Microenvironnement tumoral.....	46
• Mécanismes inhérents au Système immunitaire ou Tolérance.....	47
II – B. Les Antigènes tumoraux.....	49
1. Les Antigènes codés par des gènes mutés ou anormalement exprimés.....	49
1.1 Les Antigènes uniques codés par des gènes mutés.....	49
1.2 Les Antigènes non mutés surexprimés.....	50
2. Les Antigènes tumeur-spécifiques.....	50
3. Les Antigènes de différenciation.....	51

CHAPITRE III : Vaccination Préventive et Cancer.....	52
I – Vaccination préventive contre le cancer du col de l'utérus.....	52
I – A : Différents types de vaccins.....	53
1. Vaccin monovalent HPV 16.....	55
2. Vaccin bivalent HPV 16,18.....	56
3. Vaccin quadrivalent HPV 6,11,16,18.....	56
I – B : Immunogénicité.....	57
I – C : Tolérance.....	58
I – D : Protection croisée.....	60
I – E : Stratégies Vaccinales.....	61
II – Vaccination préventive contre le cancer du foie induit par le virus de l'hépatite B...63	
II – A : Hépatite B chronique et évolution vers le CHC.....	64
II – B : Les différents Vaccins.....	67
II – C : Conséquences de la Vaccination sur l'épidémiologie du CHC.....	69
III – Perspectives et Recherche.....	71
 CHAPITRE IV : Vaccination Thérapeutique.....	 80
I - Vaccins à base de cellules tumorales.....	81
I – A : Cellules Autologues.....	81
I – B : Cellules Allogéniques.....	85
II - Vaccins à base de cellules dendritiques.....	88
III – Vaccins à base de protéines/peptides.....	91
III–A : Les Antigènes tumoraux en tant que cible thérapeutique.....	91
III–B : Des Adjuvants Immunostimulateurs pour les vaccins à base de protéines/peptides.....	92
IV – Vaccins basés sur la génétique.....	95
IV – A : Les Vaccins à ADN.....	95
IV – B : Les Vaccins à ARN.....	96
IV – C : Les Vaccins Viraux.....	97
 CONCLUSION.....	 99
 BIBLIOGRAPHIE.....	 100

LEXIQUE DES FIGURES

Figure 1 : La Molécule du CMH de classe I.....	15
Figure 2 : La Molécule du CMH de classe II.....	16
Figure 3 : Représentation de la voie endogène de présentation sur les molécules du CMH de classe I.....	17
Figure 4 : Représentation de la voie exogène de présentation sur les molécules du CMH de classe II.....	18
Figure 5 : Représentation des mécanismes de <i>cross-presentation</i>	19
Figure 6 : Schéma représentatif du récepteur des Lymphocytes T.....	21
Figure 7 : Schéma de la présentation d'antigène par une cellule présentatrice d'antigène à un Lymphocyte T.....	22
Figure 8 : Récepteur des Lymphocytes B (BCR).....	23
Figure 9 : Transduction du signal activateur du BCR.....	24
Figure 10 : Schéma représentatif des réponses Th1 et Th2.....	27
Figure 11 : Schéma représentatif de la translocation entre les chromosomes 9 et 22 dans la leucémie myéloïde chronique.....	32
Figure 12 : Principe du test de Ames.....	33
Figure 13 : Action de l'aflatoxine sur l'ADN.....	34
Figure 14 : Schéma d'exposition à un initiateur tumoral (mutagène) et à un promoteur tumoral (non mutagène).....	35
Figure 15 : Schéma représentatif de la cancérogenèse.....	36
Figure 16 : Schéma représentatif de la migration des cellules cancéreuses.....	37
Figure 17 : Schéma représentatif des étapes du développement tumoral.....	38
Figure 18 : Réponse Immunitaire Antitumorale.....	41
Figure 19 : Caractéristiques des cellules tumorales.....	43
Figure 20 : Mécanismes d'échappement tumoral à la lyse spécifique.....	45
Figure 21 : Structure du génome viral de l'HPV-16 et rôle des protéines virales.....	53
Figure 22 : Virus de l'hépatite B (particule de Dane).....	65
Figure 23 : Représentation de l'interaction entre les Lymphocytes T et les cellules présentatrices d'antigène via PD-1 et PD-L1.....	74
Figure 24 : Agents anti-PD1 et PD-L1 à l'essai.....	76
Figure 25 : Survie moyenne sans récurrence.....	84
Figure 26 : Survie globale après traitement.....	84

LEXIQUE DES ABREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique
Ag : antigène
AICD : morte lymphocytaire induite par activation
AMM : autorisation de mise sur le marché
APC : cellule présentatrice d'antigène
ARN : acide ribonucléique
BCG : bacille de Calmette Guérin
BCR : récepteur des cellules B
CHC : carcinome hépatocellulaire
Chr : chromosome
CIN : néoplasie intracervicale
CLIP : *class II associated li peptide*
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CNP : carcinome du nasopharynx
CTL : lymphocyte cytotoxique antigène spécifique
DC : cellule dendritique
EBV : virus d'Epstein Barr
FDA : *food and drug administration*
HIF : *hypoxia inductible factor*
HLA : *human leukocyte antigen*
HPV : papillomavirus humain
IFN : interféron
Ig : immunoglobuline
IL : interleukine
NK : cellule *natural killer*
NSCLS : *non-small cell lung cancer*
PAMP : *pathogen associated molecular pattern*
PAP : phosphatase acide prostatique
PRR : *pattern recognition receptor*
RE : réticulum endoplasmique
SI : système immunitaire
TAA : *tumor associated antigen*
TAP : *transporter associated with antigen presentation*
TCR : récepteur des cellules T
TGF : *transforming growth factor*
Th : cellule T auxiliaire (lympocyte T helper)
TLR : *toll like receptor*
TNF : *tumor necrosis factor*
VEGF : *vascular endothelial growth factor*
VHB : virus de l'hépatite B
VLP : *virus like particle*

Introduction

En 2012, le nombre de nouveaux cas de cancer en France métropolitaine était estimé à 355 000 : 200 000 chez l'homme et 155 000 chez la femme. Les cancers de la prostate, du sein, du côlon-rectum et du poumon sont les cancers les plus fréquents.

Le nombre de décès par cancer était estimé à 148 000 : 85 000 chez l'homme et 63 000 chez la femme. Le cancer du poumon reste de loin le cancer le plus meurtrier chez l'homme avec 21 300 décès estimés, devant le cancer colorectal et le cancer de la prostate. Chez la femme, le cancer du sein se situe en tête de la mortalité, avec 11 900 décès, devant le cancer du poumon et le cancer colorectal.

Les principaux traitements des cancers consistent en la chirurgie, la chimiothérapie, par voie parentérale ou entérale, la radiothérapie ou encore, découverte plus récemment, l'hormonothérapie.

Malheureusement, de nombreux cancers ne répondent pas ou mal à ces traitements dits conventionnels.

Les progrès en matière d'immunologie ont permis de mettre en avant l'importance du rôle du système immunitaire dans l'apparition et la persistance de certaines tumeurs.

C'est pourquoi de nombreuses recherches ont pour objet l'immunothérapie. Ces nouveaux traitements visent à interagir directement avec le système immunitaire du patient pour l'aider à se défendre « par lui-même » contre une tumeur ou encore prévenir son apparition.

Dans une première partie, nous verrons comment fonctionne le système immunitaire ainsi que le principe de la vaccination, puis le rôle de l'immunité dans le développement de cancer. Nous aborderons ensuite le thème de la vaccination préventive contre les cancers et évoquerons les vaccins existants à l'heure actuelle. Puis nous discuterons des thérapies à l'étude en matière de vaccination thérapeutique anti-cancéreuse.

Chapitre I : Mécanismes généraux de la réponse immunitaire et Vaccination

Un antigène se définit comme une molécule reconnue de manière spécifique par un récepteur clonal du système immunitaire. Ces récepteurs peuvent être des anticorps, des récepteurs des cellules B (BCR) pour les antigènes B, ou encore des récepteurs des cellules T (TCR) pour les antigènes T. Le motif de l'antigène reconnu par ces récepteurs est appelé épitope ou déterminant antigénique. Parmi ces antigènes certains sont immunogènes, c'est-à-dire capables d'induire une réponse immunitaire spécifique. Pour cela, les déterminants antigéniques sont présentés aux cellules effectrices du système immunitaire par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) en présence de molécules de costimulation.

Les cellules dendritiques (DCs) constituent avec les macrophages et les lymphocytes B activés, une catégorie cellulaire spécialisée dans cette initiation de la réponse adaptative appelée « cellules présentatrices d'antigènes » ou « antigen-presenting cells » (APCs). En effet, leur fonction première est de dégrader les protéines de pathogènes ou de cellules mortes, et d'exposer les fragments peptidiques résultants à leur surface combinés aux molécules du CMH. La réponse immunitaire induite dépend donc étroitement de la façon dont ces antigènes sont apprêtés par les APCs.

I – Les voies de la Présentation Antigénique

Classiquement on distingue deux types de voies de présentation ou d'apprêtement de l'antigène par les APCs en fonction de son origine.

Les peptides antigéniques issus d'un pathogène intracellulaire (bactérie, virus) ou d'une protéine anormale (antigènes endogènes) sont obtenus après dégradation par le protéasome puis transportés du compartiment cytosolique vers le réticulum endoplasmique (RE). Le peptide est alors fixé sur les molécules du CMH de classe I. Le complexe ainsi formé est ensuite adressé à la membrane où il pourra stimuler les lymphocytes cytotoxiques antigène-spécifiques, ou CTLs, après reconnaissance du complexe CMH-I/peptide par le TCR. Les CTLs activés iront par la suite détruire les cellules infectées ou anormales qui présentent le même couple CMH-I/peptide.

Les pathogènes extracellulaires sont endocytés ou phagocytés par les APCs et dégradés dans des compartiments vésiculaires (lysosomes, phagolysosomes). Les fragments peptidiques produits ne sont pas transportés vers le RE, mais fixés sur les molécules du CMH de classe II présentes dans ces compartiments. Les complexes CMH-II/peptide retournent à la surface cellulaire et participent à la stimulation des lymphocytes T auxiliaires ou T helper. Ces lymphocytes organisent par la suite une réponse immune à médiation cellulaire et/ou humorale contre le pathogène reconnu.

I – A. Les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité

Les molécules du CMH sont des structures porteuses qui indiquent en permanence au système immunitaire si l'intégrité du « soi » est affecté ou non. Dénommé HLA chez l'Homme, le CMH comporte trois classes de gènes notés I, II et III. Les protéines codées par les gènes de classe I et II appartiennent à la superfamille des immunoglobulines.

Les gènes de classe I codent pour la chaîne lourde α de 45 kDa des molécules d'histocompatibilité de classe I[1]. Cette chaîne lourde porteuse de la variabilité allélique est organisée en trois domaines extracellulaires α_1 , α_2 et α_3 , une partie transmembranaire et une courte queue cytoplasmique (Figure 1). Elle est associée de façon non covalente à la β_2 microglobuline (β_2m), une chaîne légère invariante de 12 kDa, codée par un gène non inclus dans le CMH (chr. 15 chez l'Homme). Les loci humains HLA-A, B ou C (chr. 6) présentent une expression quasi ubiquitaire et un grand polymorphisme allélique qui témoignent de leur adéquation avec la fonction des CTLs. Au niveau structural, la molécule du CMH-I peut être décomposée en 2 parties : une « tige » formée par le domaine α_3 de la chaîne lourde qui interagit avec la β_2 microglobuline. Cette tige assure la connexion avec la portion intracellulaire courte de la molécule et supporte du côté extracellulaire la « tête » de la molécule formée des domaines α_1 et α_2 de la chaîne lourde. Ces domaines α_1 et α_2 forment un plateau constitué par le rapprochement de huit plis β antiparallèles surmonté de deux hélices α . Plateau et hélices, tous deux porteurs de la variabilité allélique, délimitent une cavité de 25 Å de long et 10 Å de large fermée à ses deux extrémités. C'est à ce niveau que se fixent les peptides de huit à dix résidus issus de la dégradation de l'antigène dans le cytosol pour être présentés au TCR des CTLs (positives pour le co-récepteur CD8). D'autres types spécialisés de lymphocytes, les cellules NK, reconnaissent également le CMH-I. Dans certaines conditions, les NK sont capables de lyser des cellules qui n'expriment plus les chaînes de classe I.

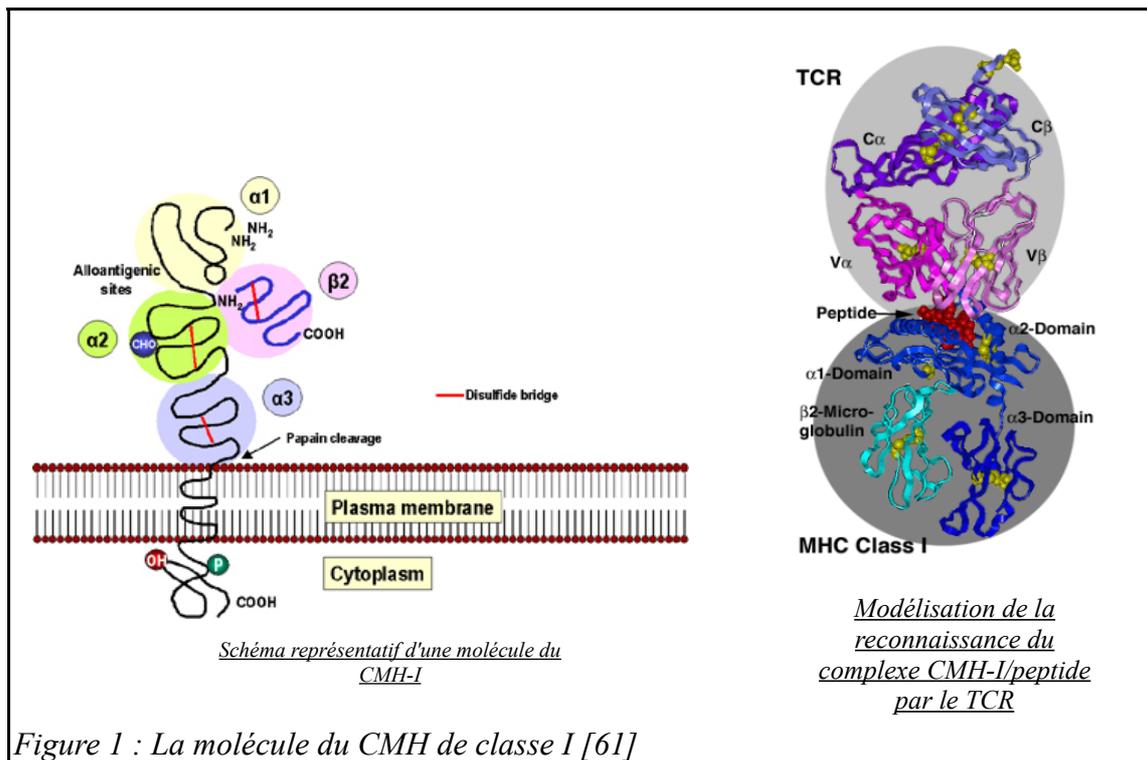


Figure 1 : La molécule du CMH de classe I [61]

Les gènes de classe II codent pour les chaînes α (33 kDa) et β (29 kDa) des molécules du CMH de classe II (Figure 2). Toutes deux possèdent deux domaines extracellulaires $\alpha 1$ $\alpha 2$ et $\beta 1$ $\beta 2$, avec des parties transmembranaires et intracytoplasmiques très courtes. Les loci humains HLA-DR, -DQ ou -DP (chr. 6) présentent également un fort polymorphisme allélique, mais leur expression est restreinte aux APCs et aux cellules épithéliales du cortex thymique (cTEC). La structure des molécules du CMH-II est assez proche de celle des molécules du CMH-I. Le « pied » est ici composé par l'association des domaines $\alpha 2$ et $\beta 2$. Il supporte une « tête » formée par $\alpha 1$ et $\beta 1$, où chaque domaine contribue à une demi-plateforme de quatre brins et d'une hélice α . Leur association définit le site de liaison peptidique. Cependant, comparer aux molécules de CMH-I, ce site est plus superficiel et reste ouvert à ses deux extrémités. Ainsi, les peptides présentés de 16 à 25 acides aminés issus de la dégradation lysosomiale dépassent largement ce site. Les lymphocytes capables de reconnaître ces complexes CMH-II/peptide expriment le co-récepteur CD4.

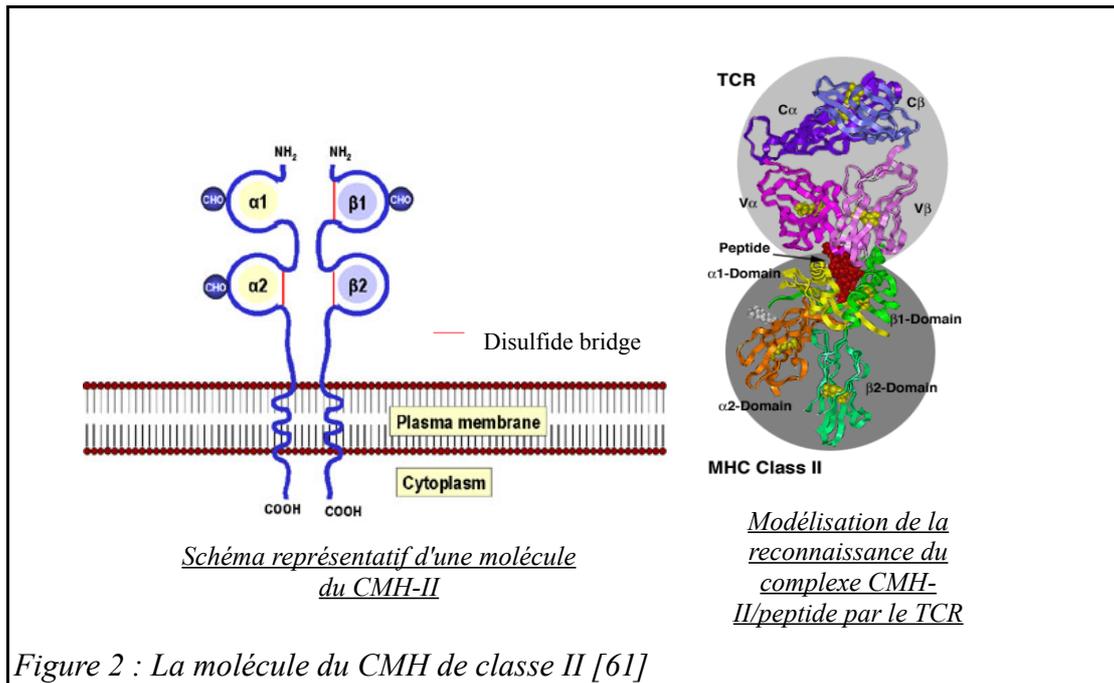


Figure 2 : La molécule du CMH de classe II [61]

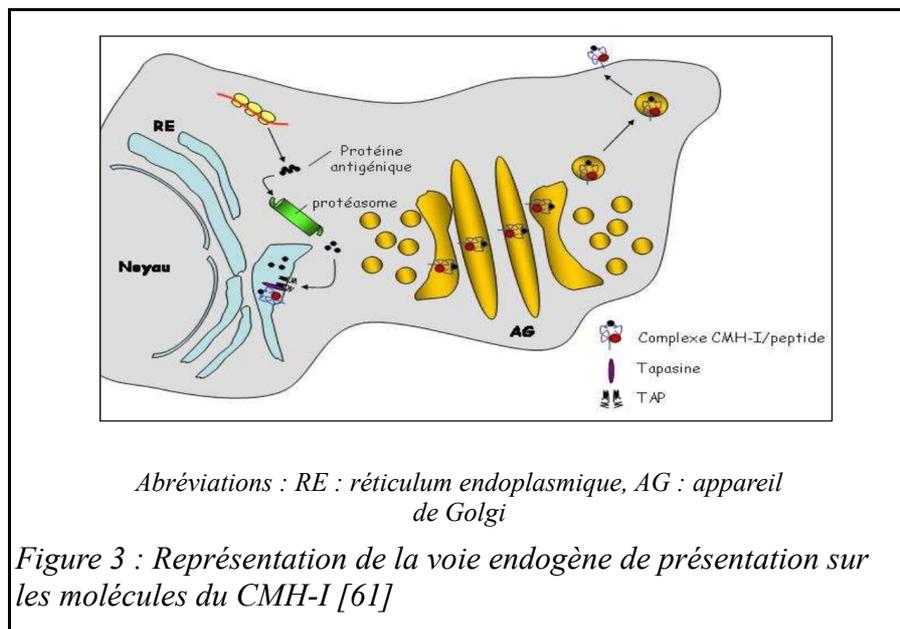
Enfin, les gènes de classe III composent un ensemble hétérogène. Située entre les régions I et II, la région III ne renferme pas de gènes intervenant dans la présentation antigénique. Elle contient des gènes codant pour des protéines à fonction immunologique telles que des protéines des sous-unités LMP-2, LMP-7 du protéasome, les transporteurs peptidiques TAP-1 et TAP-2, ou encore les molécules du complément C4A et C4B. D'autres gènes codent pour des protéines sans intérêt immunologique direct comme l'hydrolase 21 des hormones stéroïdiennes.

1. Voie endogène de présentation sur les molécules du CMH de classe I

Les mécanismes régissant la présentation des antigènes sur les molécules du CMH de classe I sont les mieux connus (Figure 3). Ils utilisent le système de dégradation protéique le mieux conservé au cours de l'évolution : la voie ubiquitine-protéasome. Les protéines antigéniques endogènes, comme les protéines endogènes de l'hôte, vont être associées à une chaîne de polyubiquitine qui favorisera leur entrée dans le protéasome[2].

Les DCs ont la particularité de posséder un « immunoprotéasome » inducible par l'interféron- γ (IFN- γ)[3]. Comparé au protéasme standard constitutivement exprimé, l'immunoprotéasome clive préférentiellement les protéines après des acides aminés hydrophobes et basiques, et non après des résidus acides. Le type de résidu retrouvé en C-terminal chez la plupart des peptides antigéniques complexés aux molécules de CMH-I semble indiquer que cet immunoprotéasome est plus efficace que le protéasome standard pour la présentation d'antigène. Les peptides de dégradation font de 4 à 24 aminoacides et ceux de plus de 8 résidus pourront être réduits par des peptidases. Les peptides antigéniques libérés sont ensuite transportés jusqu'à la membrane externe du RE et transloqués dans la lumière du RE grâce à des ATPases appelées TAP (« Transporter associated with antigen presentation »).

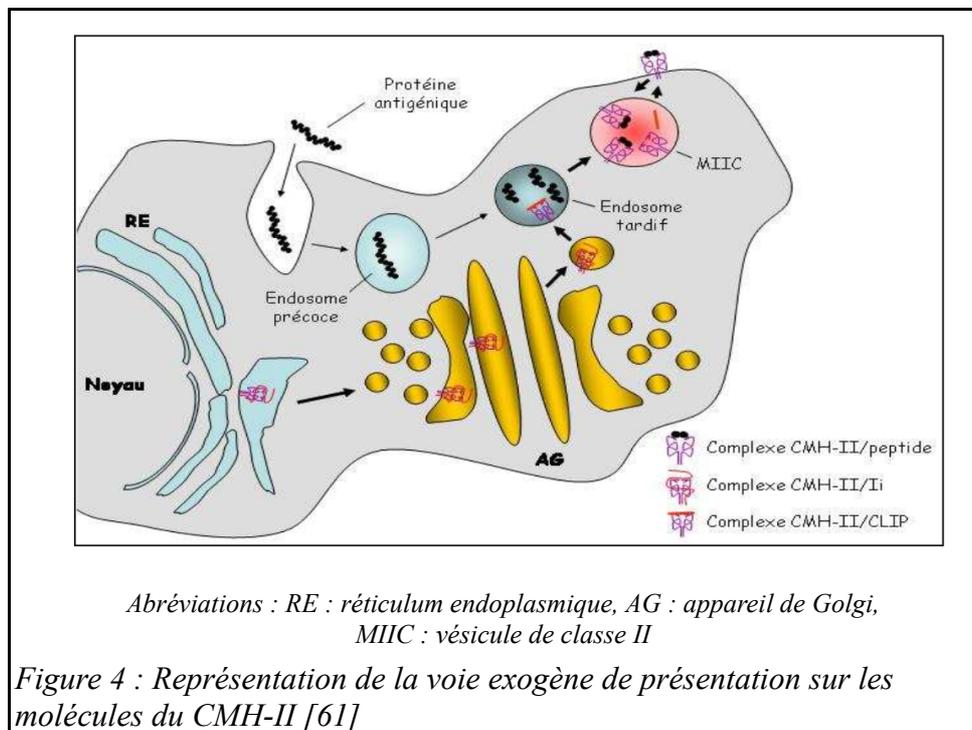
Au niveau de la membrane interne du RE, le repliement correct de la chaîne lourde du CMH-I et du complexe chaîne lourde du CMH-I/ β 2 microglobuline est assuré respectivement par la calnexine et le couple calréticuline/Erp57. La fixation des peptides est facilitée par l'interface créée par la Tapasine entre ce complexe et les TAP. Se forme alors une molécule de CMH de classe I chargée et stable. Cette molécule est transportée ensuite à la membrane plasmique par la voie de sécrétion classique.



2. Voie exogène de présentation sur les molécules du CMH de classe II

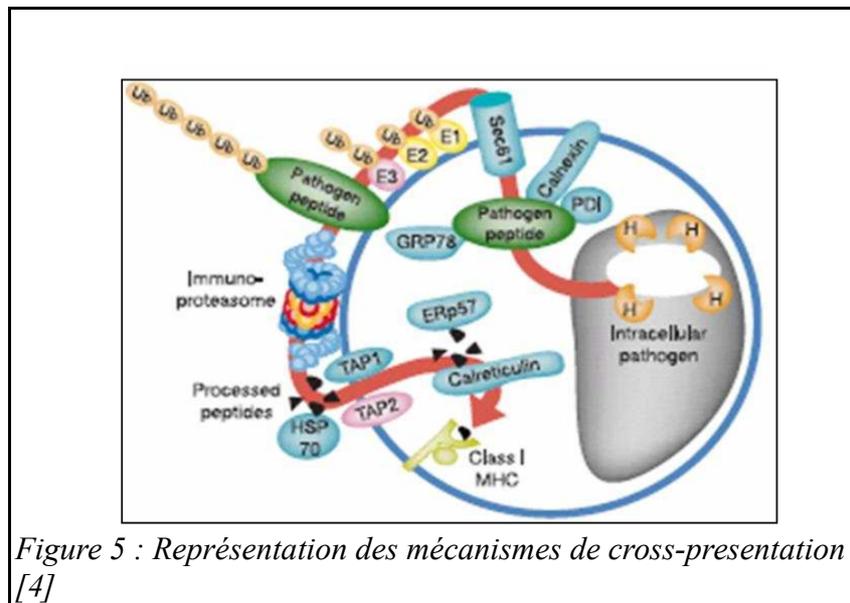
La présentation par le CMH de classe II est plus complexe (Figure 4). En effet, les molécules de CMH de classe II sont localisées initialement à la membrane interne du RE où elles sont sous forme inactive car complexées à la molécule invariante Ii (CD74). La partie intracytoplasmique de cette dernière comprenant le motif dileucine permet l'adressage du complexe via l'appareil de Golgi vers les vésicules de la voie endocytaire que constituent les endosomes précoces, les endosomes tardifs et les lysosomes. La dégradation de la chaîne invariante Ii par les protéases contenues dans les endosomes tardifs génère un fragment de 21 acides aminés appelé CLIP (class II associated Ii peptide). Ce peptide reste associé au site de fixation peptidique de la molécule de CMH-II.

Arrivé dans un compartiment endosomique spécialisé, CLIP est relargué par l'action de la molécule HLA-DM. Ceci supprime le signal de rétention dans les endosomes et libère le site de fixation qui devient alors accessible aux peptides présents dans ce compartiment. L'accumulation de molécules de CMH de classe II néosynthétisées observable dans cet endosome tardif spécialisé a conduit à la dénomination de « MIIC » (CMH class II-rich compartment), ou « CIIV » (class II vesicle). Les molécules de CMH de classe II véhiculées vers la surface peuvent être endocytées et recyclées.



3. « Présentation croisée » ou voie exogène de présentation sur les molécules du CMH de classe I

Plus récemment, il a été montré que les APCs, et plus particulièrement les DCs, possèdent aussi la capacité de présenter des antigènes exogènes sur les molécules de classe I[4]. Ce mécanisme cassant le dogme « antigène endogène-CMH-I / antigène exogène-CMH-II » est appelé « présentation croisée » (cross-presentation ou cross-priming). Cette voie semble nécessaire pour une réponse CTL contre certains pathogènes exogènes et virus n'ayant pas de tropisme pour les APCs et aussi contre certaines cellules cancéreuses. Le phagosome contenant le corps étranger fusionne avec le RE pendant, ou juste après, l'englobement du pathogène. Ceci permet ainsi la localisation dans le phagosome de protéines normalement présentes au niveau du RE[5]. Parmi celles-ci, la protéine Sec61 joue un rôle essentiel. Dans ce contexte, ses fonctions d'import des protéines néosynthétisées dans le RE, d'export et d'adressage des protéines du RE vers le protéasome, sont utilisées pour permettre la libération des protéines antigéniques dans le compartiment cytosolique (Figure 5). Les protéines TAP et les molécules du CMH-I sont également présentes dans ce compartiment suite à la fusion RE/phagosome. Il a été montré par ailleurs que l'immunoprotéasome se liait à la face cytosolique du phagosome[6].



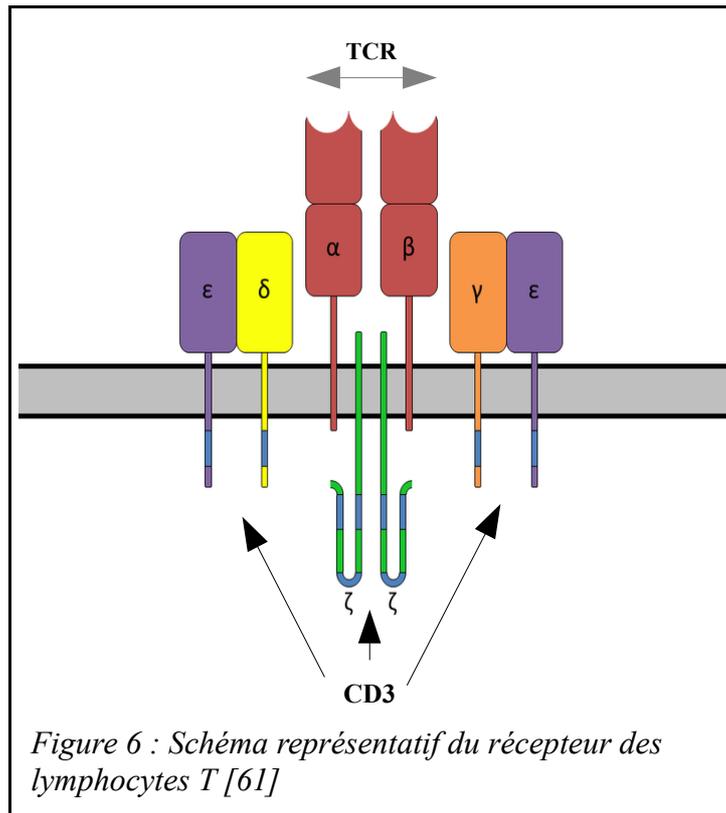
Le mécanisme de présentation croisée est donc défini comme le transport des protéines exogènes du phagosome à travers le canal Sec61 et leur dégradation à la face cytosolique de ce compartiment par l'immunoprotéasome. Les peptides antigéniques résultants sont alors réinjectés dans la lumière du phagosome où ils sont pris en charge par les molécules du CMH-I présentes à la membrane interne. Cependant, des travaux montrent que l'immunoprotéasome ne permet plus la génération de certains antigènes tumoraux endogènes ou dérivés de protéines exogènes qui empruntent la voie de présentation croisée[7]. En effet, le peptide antigénique MelanA27-35 des cancers à mélanome n'est pas mûri de façon optimale par l'immunoprotéasome et n'est plus présenté à la surface des DC.

I – B. Reconnaissance de l'antigène par les Lymphocytes T

Les lymphocytes T expriment à leur surface un récepteur susceptible de reconnaître spécifiquement un peptide antigénique présenté par la molécule de CMH. Ce récepteur T ou TCR (T Cell Receptor) est un récepteur hétérodimérique α/β à activité tyrosine kinase particulier. En effet, les fonctions d'interaction avec le ligand, de phosphorylation et de transduction du signal du TCR sont dissociées et portées par différentes protéines.

Les chaînes α et β présentent une structure de type immunoglobuline possédant une partie constante et une partie variable (Figure 6). Certains domaines hypervariables, nommés CDR1, 2, et 3 (Complementary Determining Region) sont impliqués dans la reconnaissance de l'antigène. Un complexe associé appelé CD3 (γ , δ , ϵ et ζ) permet la transduction du signal de reconnaissance de l'antigène et l'expression des chaînes $\alpha\beta$ à la surface du lymphocyte.

La molécule « corécepteur » CD8 exprimée par les lymphocytes T cytotoxiques CD8+, ou CD4 exprimée par les lymphocytes T auxiliaires, est associée au récepteur T et reconnaît une partie conservée au niveau de la « tête » du CMH. Cette molécule permet de stabiliser l'interaction des composants $\alpha\beta$ du TCR avec le complexe peptide-CMH.



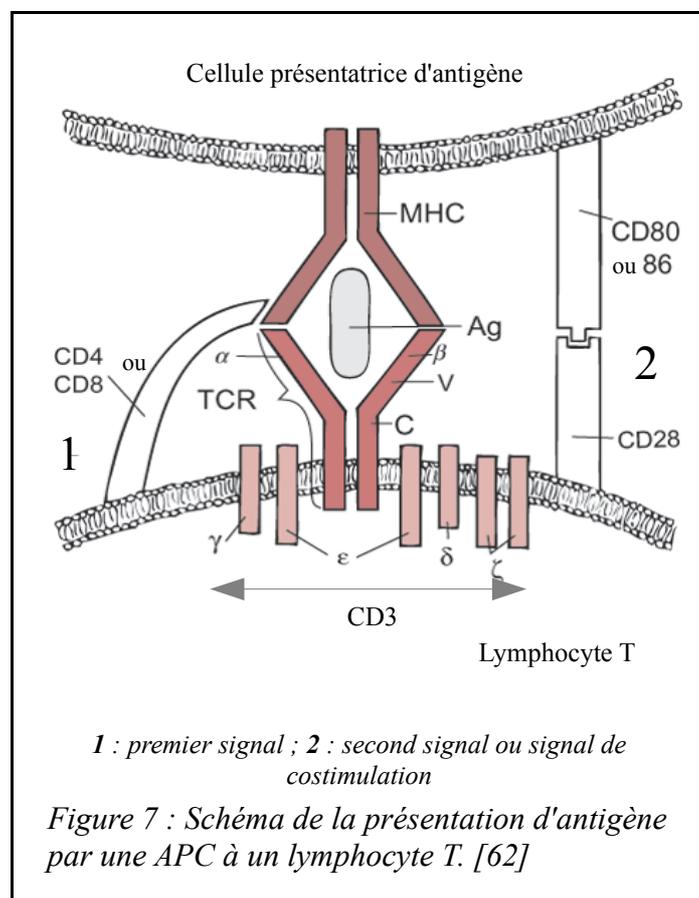
La structure macromoléculaire au point de contact entre le lymphocyte et la cellule cible ou l'APC est désignée sous le terme de « synapse immunologique » [1]. L'engagement du TCR par le complexe CMH/peptide conduit à une réorganisation moléculaire de la synapse immunologique, nécessaire à l'activation du lymphocyte. La reconnaissance du complexe CMH/peptide par le TCR est extrêmement sensible et la présentation d'une centaine de complexes CMH/peptide à la surface de la cellule présentatrice suffit à cette activation.

Le modèle le plus répandu pour expliquer ce mécanisme postule l'existence de deux signaux (Figure 7). Le premier signal est fourni par le TCR des lymphocytes. Dans le cas des lymphocytes T CD4+, ce signal 1 est obtenu quand le TCR interagit avec un complexe Ag/CMH-II présenté par les APCs. Il s'agit bien sûr de la reconnaissance du complexe Ag/CMH-I dans le cas des lymphocytes T CD8+. Le signal 2, dit de costimulation, est lui fourni par l'interaction avec les molécules B7.1 (CD80) sur l'APC et CD28 sur le lymphocyte T. Ce signal 2 ne peut être fourni que par une APC activée. De ce fait, au début d'une réponse antigénique, l'activation d'un lymphocyte T nécessite un premier contact avec une DC. En l'absence de ce signal 2, le signal 1 rend les lymphocytes T réfractaires à une activation subséquente, c'est le stade d'anergie. Un signal 2 délivré sans le signal 1 est un événement neutre. Ces 2 signaux conduisent à la production de cytokines et à une sélection clonale, c'est-à-dire à l'induction spécifique de la prolifération du lymphocyte activé par le

déterminant antigénique présenté. Au cours de cette phase d'expansion se différencient des lymphocytes effecteurs proprement-dit et des lymphocytes mémoires. Lors d'une seconde rencontre avec l'antigène, ces derniers permettront une réponse immune, dite secondaire, plus rapide et plus efficace que lors du premier contact. Ces lymphocytes mémoires sont à la base du mécanisme de vaccination.

Suite à ce mécanisme d'activation, un lymphocyte T CD4+ activé pourra prendre le relais et amplifier la réponse immunitaire grâce aux cytokines qu'il sécrète et à l'expression de nouvelles molécules de surface. Ainsi, en exprimant le CD40 ligand (CD40L) qui va reconnaître le CD40 sur une APC au repos, le lymphocyte provoque l'expression de CD80 (B7.1) et CD86 (B7.2) à la surface de cette dernière. Ces 2 molécules de costimulation sont les ligands du récepteur CD28 qui est constitutivement exprimé à la surface des T CD4+, y compris des T CD4+ naïfs. Ainsi, l'APC stimulée par les lymphocytes T CD4+ activés va être à son tour capable de recruter des T CD4+ naïfs pour les activer [1].

Cependant, l'ampleur de la réponse immunitaire est finement régulée. Par exemple, les molécules B7 peuvent également être reconnues par CTLA-4. Cet homologue de CD28, de plus haute affinité pour les molécules B7, induit un signal antiprolifératif aux lymphocytes T CD4+. Son expression est régulée au niveau de l'ARNm ainsi que par des mécanismes post-transcriptionnels. Il n'apparaît à la surface des cellules T CD4+ que 24 à 36h après leur stimulation.



L'immunoglobuline de membrane présente à la surface des lymphocytes B matures et naïfs est de type IgM ou IgD. Ces Ig possèdent une partie intracellulaire de trois aminoacides insuffisante pour la transduction du signal d'activation (Figure 9). Au contraire, la chaîne Ig α a une longue queue cytosolique de 61 acides aminés. La chaîne Ig β en contient 48. Chacune de ces chaînes comporte un motif ITAM (Immuno-receptor Tyrosine base Activation Motif) de 18 acides aminés permettant l'interaction avec plusieurs protéines de signalisation à activité tyrosine kinase de la famille Src (Fyn, Blk, Lck). Les lymphocytes B ont également à leur surface un corécepteur formé de trois protéines : CD19/CD21/CD81 (Figure 8). CD19 est un récepteur de la superfamille des immunoglobulines possédant trois domaines extracellulaires et une longue partie intracytoplasmique. Le récepteur CR2 (CD21) est un récepteur du produit de dégradation du complément C3d. Enfin, le corécepteur se compose également d'une protéine à quatre domaines transmembranaires appelée TAPA-1 (CD81) [1].

Afin de contrôler plus finement l'activation des lymphocytes B, le BCR est associé de manière constitutive au récepteur CD22 qui délivre un signal négatif. Le signal d'activation ne survient qu'avec le pontage de deux IgM, associées à leur couple Ig α /Ig β , par un antigène. Les tyrosines présentes dans les motifs ITAM des parties cytosoliques des chaînes Ig α /Ig β vont être phosphorylées par les protéines Fyn, Blk ou encore Lck. Ces tyrosines phosphorylées permettent l'ancrage et l'activation de la kinase Syk qui continuera la transduction du signal vers les voies de la phospholipase C γ 2 (et donc du DAG et de l'IP $_3$), de Ras (et donc des voies MAP kinases) ou encore de NF- κ B.

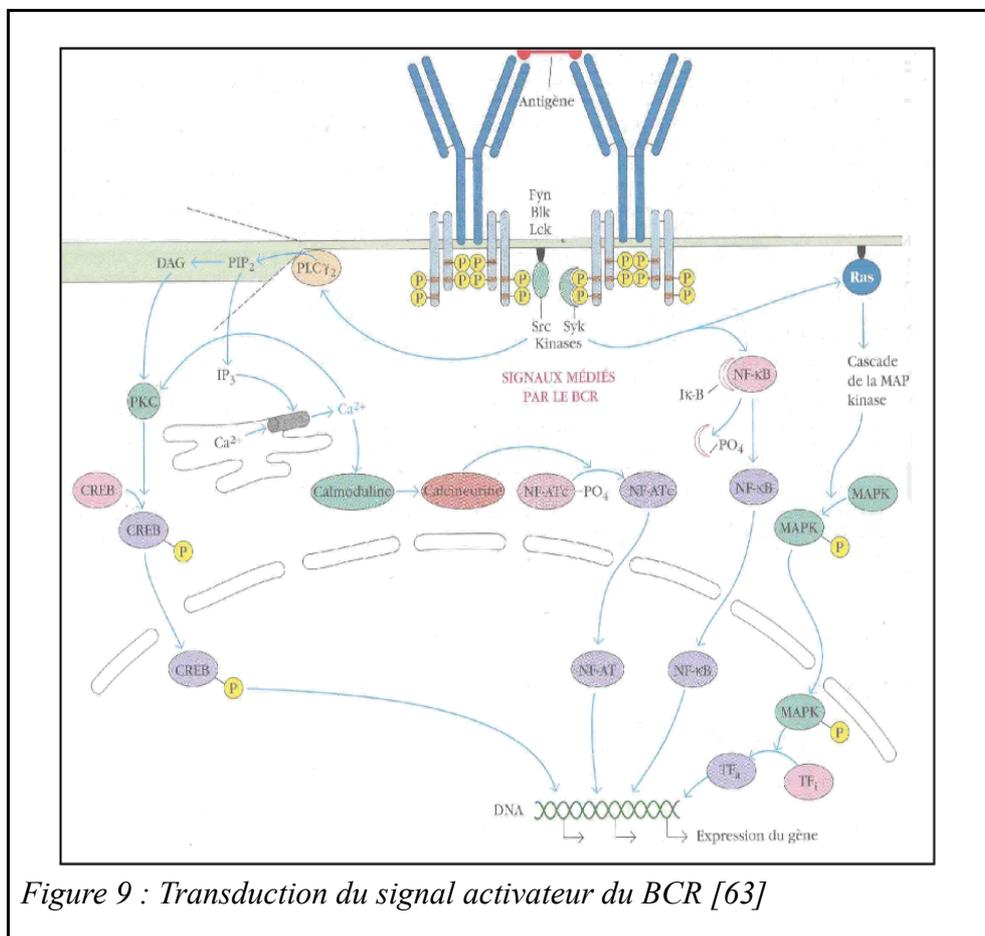


Figure 9 : Transduction du signal activateur du BCR [63]

Le corécepteur CD19/CR2/TAPA-1 permet une amplification de ce signal activateur. En effet, le récepteur CR2 se lie au complexe antigène/C3d capté par l' IgM du lymphocyte B et ancre ainsi le corécepteur à proximité du BCR. Rapprochant ainsi CD19, les six tyrosines présentes dans sa partie intracytoplasmique deviennent des substrats majeurs de l'activité kinase médiée par le BCR activé. Leur phosphorylation permet l'ancrage de nombreuses molécules de signalisation et l'amplification du signal transmis par le BCR.

Cependant, l'activation des lymphocytes B par un antigène protéique soluble nécessite une coopération avec des cellules T auxiliaires (Th) et la formation d'un conjugué T-B. Une fois fixé à l' IgM, l'antigène est internalisé par le lymphocyte B puis apprêté en peptides par la voie exogène de présentation antigénique. La fixation de l'Ag par le lymphocyte B conduit à un premier signal d'activation induisant l'expression des molécules du CMH de classe II et de costimulation B7 (CD80 et CD86). Le lymphocyte B activé devient alors une APC présentant les peptides de l'Ag internalisé au lymphocyte T auxiliaire. Le Th reconnaît le complexe antigène-molécule du CMH-II à la surface du lymphocyte B. Cette reconnaissance, associée à un signal de costimulation par interaction entre les molécules B7 du lymphocyte B et le CD28 du Th, conduit à l'activation du lymphocyte T. En réponse, celui-ci exprime CD40L (CD154) à sa surface qui se lie au CD40 présent à la surface du lymphocyte B. C'est le second et dernier signal activateur pour le lymphocyte B. Ainsi activé, le lymphocyte B exprime alors divers récepteurs aux cytokines à sa surface et notamment à l'IL-2, l'IL-4 et l'IL-5 sécrétées par le lymphocyte Th. Les cytokines induisent l'entrée en mitose du lymphocyte B nécessaire au mécanisme d'expansion clonale.

II – Les réponses Immunitaires de type Th1 et Th2

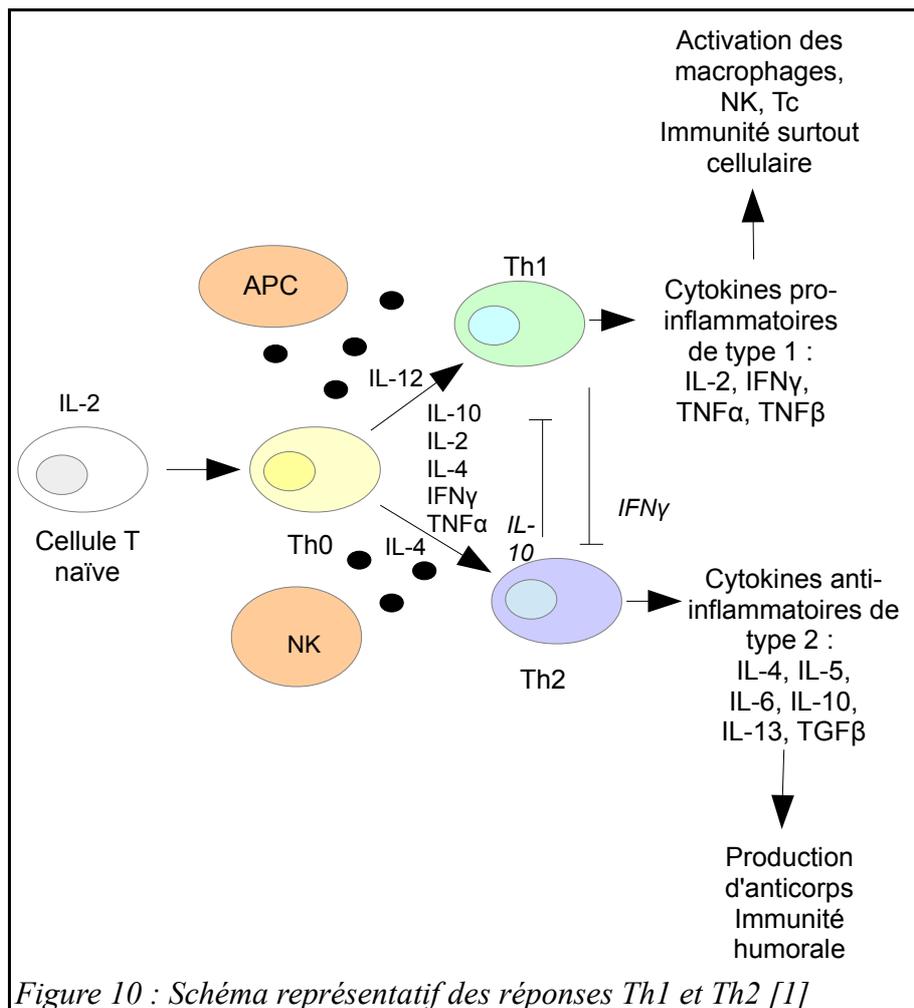
La réponse immunitaire spécifique contre la plupart des antigènes est dépendante de lymphocytes T helper CD4+ (Th). Deux sortes de réponses immunitaires peuvent être générées par les lymphocytes T CD4+. Le premier type dépend des lymphocytes Th1, et le deuxième des lymphocytes Th2. Le type d'APC, les cytokines présentes lors de la stimulation initiale des T CD4+, l'affinité de la liaison Ag/CMH-II, et le type de molécules impliquées dans le signal 2 déterminent si une réponse immunitaire va être de type Th1 ou Th2 (Figure 10).

II – A. La réponse de type Th1

Une réponse immunitaire de type Th1 est dirigée contre un antigène intracellulaire, comme rencontré lors d'une infection virale ou d'un processus oncogène. Une APC (macrophage ou DC) présente des peptides antigéniques aux lymphocytes T CD4+ sur les molécules du CMH-II. La production de l'interleukine-12 (IL-12) stimule les lymphocytes T CD4+ vers une réponse de type Th1. Les DCs ayant ce potentiel sont appelées DC1. Les lymphocytes Th1 produisent à leur tour de l'IL-2 et de l'IFN- γ . Ces deux cytokines stimulent les lymphocytes T CD4+ et CD8+ ainsi que les APCs et amplifient la réponse immunitaire. L'IL-2 favorise l'expansion clonale des T activés après la reconnaissance de l'antigène. L'IFN- γ permet d'induire une réponse antivirale dans les autres cellules de l'organisme, qui sont saines mais exposées à cette cytokine. Parallèlement, les APCs présentent des peptides antigéniques aux lymphocytes T CD8+ cytotoxiques sur les molécules du CMH-I. Associée à la stimulation par les T CD4+, via les cytokines, cette présentation active les lymphocytes T CD8+. Les clones lymphocytaires T CD8+ cytotoxiques sont maintenant capables de reconnaître et de lyser les cellules tumorales ou infectées par un virus présentant le peptide antigénique complexé au CMH-I. Au moins deux mécanismes différents sont impliqués dans l'éradication des cellules cibles. Le premier consiste en une sécrétion de perforines par les T CD8+. Ces protéines s'insèrent dans la membrane de la cellule cible en formant des pores. Ces pores permettent l'entrée des enzymes protéolytiques du lymphocyte CD8+ dans le compartiment intracellulaire de la cellule cible. Une de ces enzymes, le granzyme B, induit l'entrée en apoptose de la cellule en activant directement les caspases effectrices. Un second mécanisme implique le système Fas-Fas ligand (FasL). Il conduit également au déclenchement de l'apoptose de la cellule cible par l'activation de la voie de la caspase 8.

II – B. La réponse de type Th2

La réponse Th2 est caractérisée par une étroite collaboration dans la lutte contre le même antigène entre les lymphocytes T CD4+ et les lymphocytes B. Les lymphocytes B jouent un rôle prépondérant en tant qu'APC. Lors d'une réponse de type Th2, les lymphocytes T CD4+ produisent les interleukines IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et IL-13 et favorisent la commutation de classe et la production d'anticorps. Ceci conduit à une réponse immunitaire de type humorale. Le mélange d'IL-2, IL-4 et IL-5 induit la prolifération des lymphocytes B activés. L'IL-6 favorise la différenciation terminale en plasmocytes sécréteurs d'anticorps. L'association IL-4/IL-5, en absence d'IFN- γ dans le microenvironnement, induit la commutation de classe d'immunoglobuline vers l'IgE. Or l'IL-4 produite par les lymphocytes Th2 conduit également à la prolifération des mastocytes. Ces cellules sont sensibles à la liaison des IgE à leur surface. Cette liaison d'IgE conduit à la dégranulation et à la libération d'histamine et d'autres substances médiant les réactions allergiques [1].



III – Les autres cellules effectrices de la réponse immunitaire

D'autres cellules que les DCs, les lymphocytes B, les lymphocytes T CD4+ et les lymphocytes T CD8+ sont impliquées dans l'orientation de la réponse immune et la réponse antitumorale.

III – A. Les cellules NK et NKT

Les cellules NK (Natural Killer) sont des cellules effectrices de l'immunité innée servant de première ligne de défense à l'organisme. Elles éliminent les cellules cibles sans sensibilisation préalable. Elles sont dépourvues de TCR et de spécificité vis-à-vis d'un peptide antigénique donné. Les cellules NK peuvent être activées par les DCs et produire des cytokines de type I et II et ainsi participer au transfert d'une réponse innée immédiate à une réponse acquise[8]. En tant que cellules effectrices, elles lysent les cellules présentant une absence ou un faible taux de CMH-I à leur surface (infection virale ou cancer) ou un CMH-I de type allogénique (transplantation, grossesse). Leur activité cytotoxique est étroitement régulée par une communication complexe de récepteurs activateurs et inhibiteurs reconnaissant des ligands à la surface des cellules cibles. Le mécanisme de reconnaissance des molécules du CMH de ces cellules se fait par des glycoprotéines membranaires de type I et par des récepteurs apparentés aux immunoglobulines à la surface des NK. Dans des conditions physiologiques, les cellules présentant un CMH syngénique induisent un signal inhibiteur dominant dans les NK. Il en résulte donc une préservation des cellules du soi normales et une élimination des cellules exprimant un CMH de classe I aberrant. Dans le cas de tumeurs exprimant peu ou pas les molécules du CMH-I, l'activité cytotoxique des cellules NK semble être le mécanisme de défense prédominant[9].

Les cellules NKT (Natural Killer T) ont la particularité de co-exprimer le TCR, caractéristique des cellules T, et le récepteur NK1.1, caractéristique des cellules NK. Comme les cellules NK, les NKT peuvent être activées par les DCs et participent au transfert de la réponse innée vers la réponse adaptative. Elles sont capables d'une sécrétion rapide, forte et de façon très polarisée de cytokines de type I (IFN- γ) et II (IL-4). Les cellules NKT reconnaissent un nombre limité d'antigènes. Ces antigènes sont présentés par les molécules non-polymorphiques apparentées au CMH et appelées CD1. Ces molécules de CD1 sont fortement exprimées à la surface des DCs immatures et lient un ensemble restreint d'épitopes inhabituels et essentiellement glycopeptidiques. Les cellules NKT sont capables de contrôler le développement de la tumeur, voire d'induire son rejet. Cependant, leur rôle dans une réponse antigène-spécifique reste à établir. Les cellules NKT semblent être importantes dans les phases d'initiation de la réponse immune et dans l'orientation Th1/Th2 de celle-ci.

III – B . Les Lymphocytes T régulateurs

Les lymphocytes T régulateurs (T reg) sont des suppresseurs professionnels de la réponse immune. Représentant 5 à 10% des T CD4+, ils ont la particularité d'exprimer constitutivement le CD25. Ce récepteur n'est exprimé dans les autres lymphocytes T CD4+ qu'après reconnaissance de l'antigène et activation du TCR. Les lymphocytes T reg, constitutivement CD4+CD25+, inhibent les cellules T autoréactives, prévenant ainsi des maladies autoimmunes mais également des réponses antitumorales. Les T reg présentent certaines caractéristiques très conservées au cours de l'évolution. Ils ont une capacité limitée à proliférer, expriment de façon constitutive le récepteur CTLA-4 à leur surface et produisent des cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10 et le TGF- β . Un autre type de lymphocyte T reg, cette fois-ci apparenté aux T CD8+, a également été isolé et exprime CD8 en absence de CD28.

IV – La Vaccination

Le principe de l'immunisation active, c'est-à-dire la mise en place d'une immunité protectrice et d'une mémoire immunitaire, a été découvert par les pratiques de variolisation dès le XIe siècle en Chine.

Au XVIIIe siècle en Europe, Daniel Bernoulli démontra que, malgré les risques, la généralisation de cet acte médical allongeait de trois ans l'espérance de vie à la naissance. Il avait également été observé, sans se l'expliquer, que les vachers atteints de vaccine, une maladie bénigne transmise par leurs vaches, étaient protégés contre la variole.

Ainsi en 1796, Edward Jenner inocule le virus de la vaccine à un enfant. Celui-ci s'avérera immunisé contre la variole après trois mois d'incubation. Le premier « vaccin » était né. Il faudra attendre les travaux de Robert Koch sur la relation entre microbes et infections, puis ceux de Louis Pasteur et de ses collaborateurs Roux et Duclaux, pour que le principe d'action de la vaccination soit établi.

En 1881, Pasteur vaccine un troupeau de moutons contre le choléra, et en 1885 il met au point le vaccin contre la rage. Depuis, de nombreux autres principes vaccinaux ont été développés.

En fonction du type de principe actif utilisé, on peut distinguer les vaccins antiviraux ou antibactériens utilisant :

- des organismes pathogènes entiers :
 - virus ou bactéries atténués : Bacille de Calmette-Guérin ou BCG (*Mycobacterium bovis*) contre la tuberculose,
 - virus ou bactéries inactivés par la chaleur ou par voie chimique comme l'utilisation du formaldéhyde : Coqueluche,
- des macromolécules purifiées :
 - polysaccharides : Méningite, pneumonie à pneumocoques,
 - toxoïdes : tétanos,
 - protéines recombinantes : Hépatite B (HBsAg)
 - peptides synthétiques,
 - acides nucléiques : ADN ou ARN,
- des organismes modifiés :
 - virus dérivés de la vaccine, du polyovirus,
 - souches bactériennes atténuées dérivées de *Salmonella typhimurium*
 - cellules dendritiques chargées.

Les progrès de la médecine laissent envisager aujourd'hui deux grandes familles de vaccins : les vaccins préventifs et les vaccins thérapeutiques. L'objectif d'un vaccin préventif est de protéger la population contre la maladie avant tout contact avec le pathogène. Il s'agit donc d'éduquer le système immunitaire pour qu'il reconnaisse un pathogène avant l'apparition de symptômes et qu'il puisse l'éliminer définitivement. Ce vaccin est ainsi administré à un sujet « sain » afin que son intégrité soit préservée. Le vaccin thérapeutique est lui administré dans un contexte pathologique. Il a pour objectif de guérir le sujet atteint en stimulant son système immunitaire pour permettre d'enrayer la progression de la maladie, voire de l'éradiquer.

Enfin, dans les stratégies vaccinales, deux approches distinctes peuvent être envisagées. La première consiste à l'injection directe de particules antigéniques au sujet. Cette stratégie (*in vivo*), simple dans son acte, est la plus commune et la plus adaptée aux vaccins préventifs. La seconde stratégie, (*ex vivo*) plus contraignante, est plus dédiée aux vaccins thérapeutiques. Par exemple, dans le cas d'une immunothérapie cellulaire, elle consiste à prélever les DCs ou leurs précurseurs du patient et les mettre en culture afin de procéder aux étapes de différenciation, de maturation et de chargement par l'antigène. Ces DCs modifiées sont ensuite réinjectées au patient. Cette approche est actuellement utilisée pour le développement de vaccins antitumoraux.

Chapitre II : Immunité et Cancer

I – Processus Tumoral

I – A :Définition d'une cellule cancéreuse

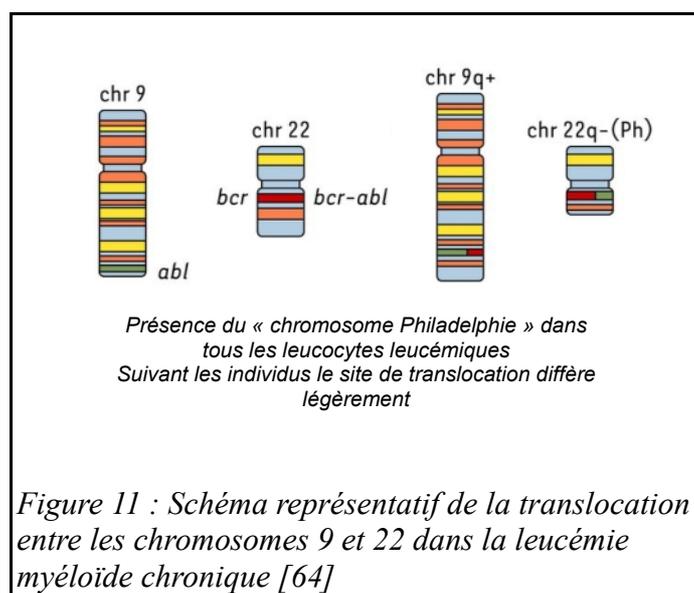
Une cellule cancéreuse est un clone cellulaire échappant aux lois de la prolifération habituelle. Elle possède une capacité de reproduction au-delà des contraintes normales du tissu d'origine c'est-à-dire une autonomie de production de signaux de croissance endogènes, une croissance indépendante de signaux exogènes ou endogènes, une insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance (pas d'inhibition de contact) et une résistance à l'apoptose[10]. Elle est capable de coloniser des territoires tissulaires réservés à d'autres cellules, et bénéficie d'une angiogenèse activée et prolongée. Au cours des divisions cellulaires, une cellule modifie son génome. L'accumulation des mutations successives aboutit à une cellule proprement dite "cancéreuse". On la reconnaît à l'examen microscopique sur ses critères morphologiques. C'est l'agencement de cellules anormales au sein d'un tissu qui confirme le diagnostic de cancer. Dans ce cas, les cellules possèdent indifféremment: un noyau plus gros que dans une cellule normale avec des anomalies de forme, des anomalies du nombre de nucléoles, un cytoplasme plus basophile et vacuolisé.

I – B :Différents types de cancers humains

Il existe plus de cent formes distinctes de cancers. Les carcinomes sont des cancers issus de cellules épithéliales et correspondent à plus de 90% des cancers humains. Les sarcomes proviennent du tissu conjonctif ou de cellules musculaires, les leucémies sont des cancers des cellules hématopoïétiques. Il existe également des cancers des cellules nerveuses. Les cancers provenant de types cellulaires différents donneront des maladies différentes, par exemple, un carcinome des cellules basales de l'épiderme entraînera la synthèse de cytokératine, sera localement envahissant et produira peu de métastases, alors qu'un mélanome, cancer d'une cellule pigmentaire de la peau, entraînera la synthèse de pigments, et produira de nombreuses métastases précoces.

I – C : Origine Monoclonale et Génétique

Les cancers ont une origine monoclonale. Une tumeur sera visible aux rayons X au seuil de 10^8 cellules et sera palpable à partir de 10^9 cellules. Dans toutes les cellules d'un même cancer, il existe une anomalie génétique commune, variable suivant les cancers. Par exemple, comme dans la leucémie myéloïde chronique, un réarrangement génique qui entraîne une perte de contrôle sur certains gènes (Figure 11).



Les cancers ont donc une origine génétique. Pour preuve, on peut citer la relation entre carcinogénèse et mutagenèse : le test de Ames (Figure 12) en est un bon exemple. Il s'agit d'un test biologique permettant de déterminer le potentiel mutagène d'un composé chimique. Les cancers étant souvent liés à des dommages causés dans l'ADN, ce test rapide est donc utilisé afin d'estimer le potentiel cancérigène d'une substance. Le protocole fut décrit dans une série de publications au début des années 1970 par Bruce Ames et son équipe de l'Université de Californie, Berkeley. Le principe de ce test repose sur différentes souches bactériennes de *Salmonella typhimurium* portant des mutations dans les gènes nécessaires à la synthèse de l'histidine. Ainsi, celles-ci sont donc auxotrophes pour l'histidine et requiert par conséquent un apport d'histidine pour se développer. Le test permet donc d'évaluer la facilité que possède une substance à induire une réversion de la souche auxotrophe.

Dans le cas d'une substance mutagène, on observe ainsi l'apparition de souches prototrophes, ne nécessitant plus d'histidine pour croître mais d'un milieu minimum seulement. Un extrait de foie de rat (appelé S9 Mix) est ajouté afin de simuler l'effet du

métabolisme. En effet, certains composés comme le benzopyrène une fois métabolisés induisent la formation de produits cancérogènes. Du S9 Mix de Hamster peut être utilisé pour entraîner la métabolisation de certains produits. Certains toxiques directs ne nécessitent cependant pas d'activation métabolique avec du S9 Mix. On peut alors le remplacer par du PBS.

Différentes souches de *Salmonella typhimurium* peuvent être utilisées pour ce test. Différents types de dommages à l'ADN peuvent ainsi être observés en fonction des souches. La souche TA98 qui est l'une des plus utilisées est plus sensible aux mutations qui affectent le cadre de lecture. La souche TA100 est une souche plus sensible aux mutations de substitutions. Comme *Salmonella* est un organisme procaryote, il ne représente pas un modèle parfait pour l'Homme. Un modèle *in vitro* plus adapté a été créé pour les cellules eucaryotes, sur des cellules de levures par exemple.

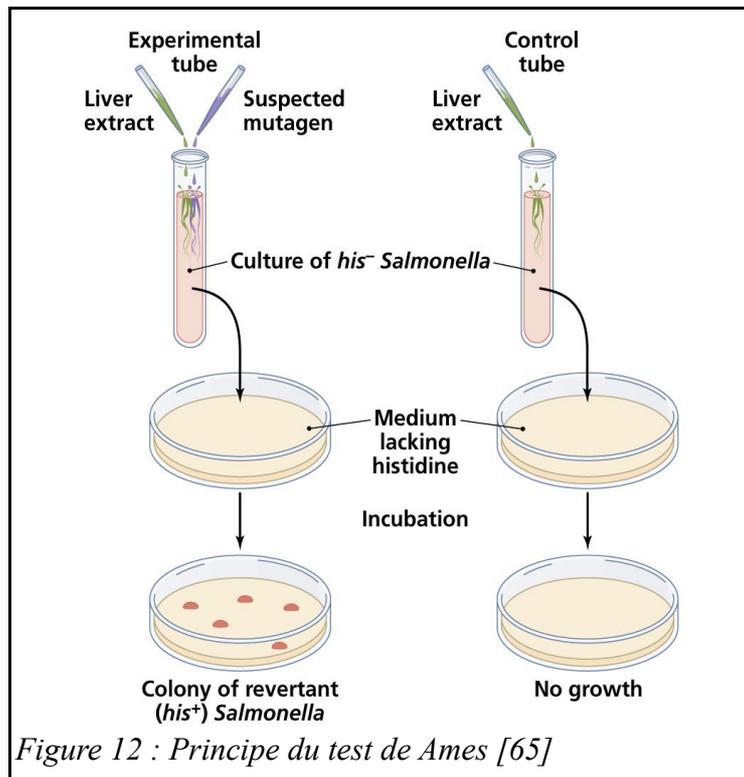
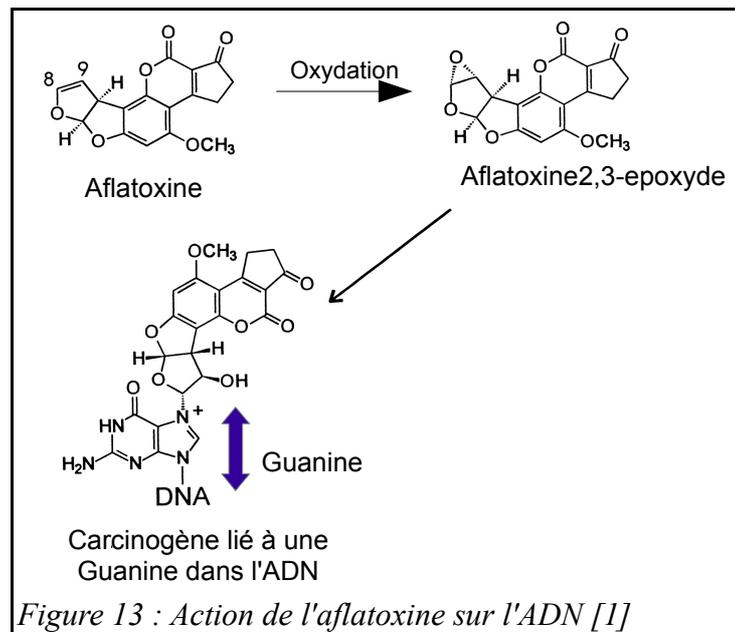
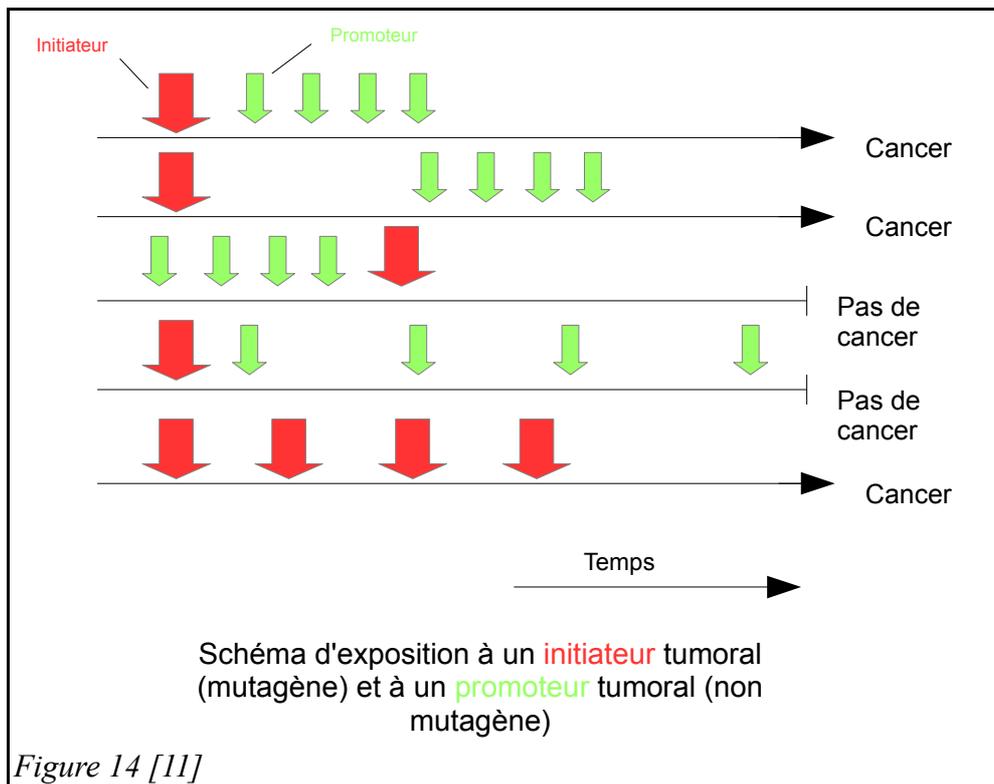


Figure 12 : Principe du test de Ames [65]

Il existe donc des carcinogènes chimiques qui entraînent des remaniements localisés de la séquence nucléotidique, comme l'aflatoxine, mycotoxine produite par des souches d'*Aspergillus*, au pouvoir cancérigène élevé (Figure 13), des rayonnements ionisants qui peuvent induire des cassures et translocations des chromosomes, ainsi que des virus qui introduisent de l'ADN étranger dans les cellules.



Les cancers sont donc les produits de multiples facteurs de l'environnement. Chaque étape de la cancérogenèse est gouvernée par une multitude d'éléments : la génétique de l'individu, l'environnement, le mode de vie. Les facteurs environnementaux peuvent être difficile à identifier : il existe des initiateurs tumoraux mutagènes (aflatoxine, carcinogènes de la cigarette comme le benzopyrène...) ainsi que des promoteurs tumoraux (exposition aux hormones de la reproduction pour la femme, stimulation immunologique...) (Figure 14).



L'exposition d'un gène à un initiateur et à un promoteur tumoral entraînera l'apparition d'un cancer. Si l'exposition à un initiateur mutagène intervient après celle au promoteur, il n'y aura pas de développement de cancer. Il en est de même si l'exposition au promoteur est éloignée dans le temps. L'effet du promoteur peut par contre être remplacé par une exposition répétée à un initiateur.

I – D : Cancérogenèse

La cancérogenèse se réalise en plusieurs étapes dont certaines sont irréversibles, d'autres réversibles[11]. Tout d'abord, l'initiation. C'est la première phase. Elle ne concerne qu'une seule cellule. Elle rend la cellule immortelle. On suppose que cette phase n'est due qu'à un seul facteur (chimique, physique, ou génétique) et que ce phénomène ne survient qu'une seule fois. Puis, survient l'étape de promotion : Au cours de la deuxième phase, la cellule acquiert par mutations successives, les caractéristiques qui lui permettent de créer un cancer. Ces étapes peuvent être réversibles, et sont modulées par des nombreux facteurs immunitaires, hormonaux. Enfin, l'étape de progression cellulaire : Pendant cette phase, les cellules filles de la cellule transformée sont sélectionnées pour donner des clones plus malins et pour acquérir des propriétés leur permettant par exemple de métastaser (Figure 15).

A partir de l'initiation, il faut attendre 30 temps de doublement (multiplication) pour que la tumeur soit décelable cliniquement et seulement 10 temps de doublement supplémentaire pour aboutir finalement à la mort du malade et ce, quelles que soient les complications éventuelles. La phase clinique de la maladie est donc beaucoup plus courte que la phase préalable inconnue de la maladie. Au début la croissance est lente. Elle correspond à la croissance des cellules filles: promotion. Puis avec la progression, les cellules deviennent plus malignes et croissent plus rapidement. A la fin de la phase clinique, les tumeurs peuvent se nécroser et, par leur taille, être moins facilement nourries. Il y a plus de pertes cellulaires et, paradoxalement, la croissance est moins rapide [10].

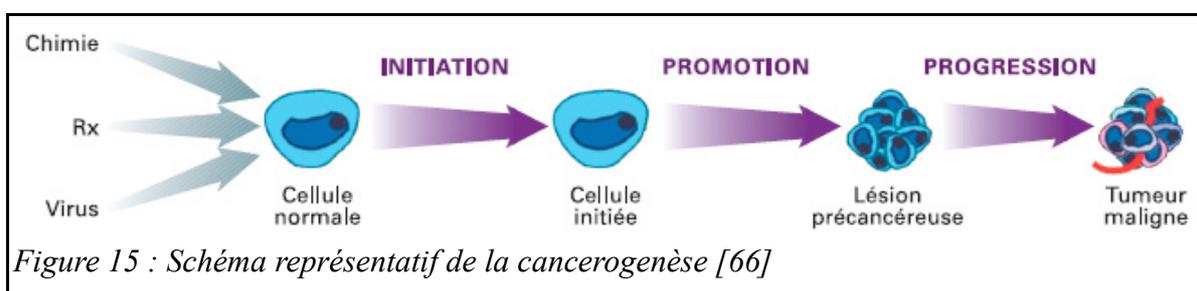
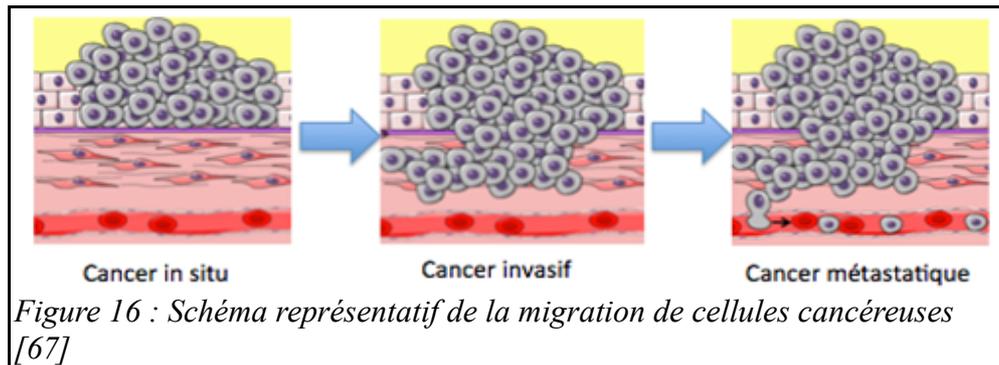


Figure 15 : Schéma représentatif de la cancerogenèse [66]

La cinétique des tumeurs humaines est étudiée à partir de cancers d'organes faciles d'accès comme le cancer du col utérin dépisté par frottis. La multiplication des cellules, puis leur non-différentiation, aboutissent à des métaplasies. Cette période correspond à une phase réversible. Le cancer in situ qui survient ultérieurement correspond à une phase devenue irréversible mais où la membrane basale du tissu cutané reste conservée. Enfin l'extension aboutit au cancer invasif. A ce stade, les traitements locaux (chirurgie ou radiothérapie) offrent la guérison. Certaines tumeurs restent au stade local, comme les cancers basocellulaires de la peau, ce qui explique leur relative bénignité. Quand la tumeur grossit, les possibilités pour les cellules malignes d'acquérir des propriétés métastatiques augmentent. La première invasion se fait partiellement dans les ganglions drainant le territoire lymphatique de la tumeur. C'est l'envahissement loco-régional. Dans le cancer du sein, par exemple, l'envahissement des ganglions axillaires est très fréquent. C'est pour cela que le curage ganglionnaire du creux axillaire est associé à l'exérèse de la tumeur. L'analyse du prélèvement affine le pronostic et assure une meilleure adaptation de la thérapeutique. En principe le traitement associe chirurgie et radiothérapie. Au cours de sa croissance, la tumeur continue d'acquérir les possibilités de métastaser. Les cellules cancéreuses peuvent migrer, survivre dans la circulation générale, s'implanter dans un organe à distance et proliférer pour donner une nouvelle tumeur (Figure 16). Ces capacités sont données au cours de mutations successives et sont donc plus fréquentes dans les plus grosses tumeurs.

Selon le type de la tumeur primitive, certains organes sont plus volontiers atteints. Cela dépend de la localisation des métastases, de leur situation vasculaire par rapport à l'organe atteint, de leur tropisme propre. Ainsi, le cancer du colon métastase en premier vers le foie, le sarcome des os vers le poumon, le cancer du poumon a de très fréquentes métastases dans les surrénales et le cerveau. Lorsqu'une tumeur a acquis le capacité de métastaser, le seul traitement curateur est général, c'est à dire par chimiothérapie.



I – E : Néo-Angiogenèse

L'angiogenèse, du grec *angeion* (vaisseau) et *genesis* (naissance), désigne un ensemble de phénomènes multiples conduisant à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir d'un réseau vasculaire préexistant.

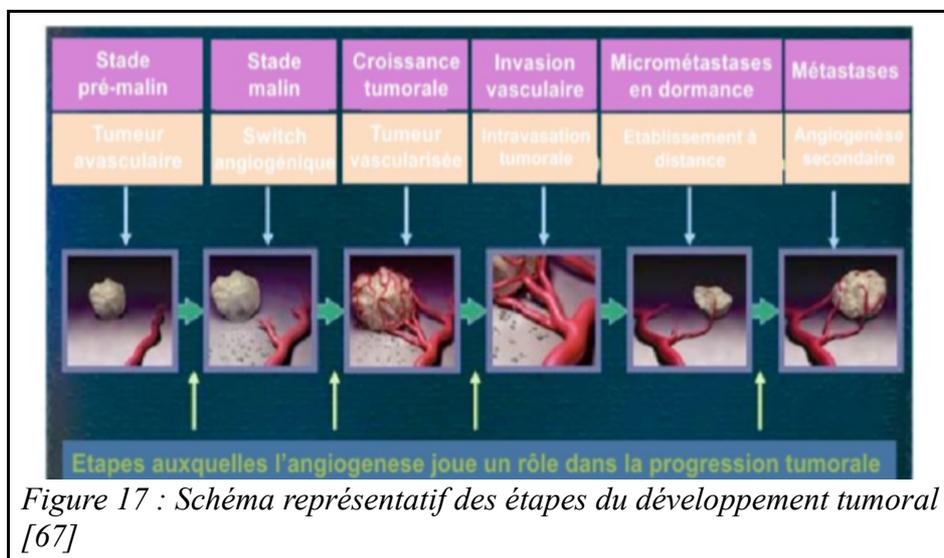
Le phénomène d'angiogenèse est exploité par les cellules tumorales pour apporter, via le sang, l'oxygène et les nutriments qui sont nécessaires à leur croissance.

Judah Folkman, un chercheur américain (1933-2008) considéré comme le père fondateur des travaux portant sur l'angiogenèse tumorale, a démontré que dans la première étape de la prolifération, les cellules reçoivent leur oxygène par une diffusion passive. Quand la taille de la tumeur augmente, la perfusion passive d'oxygène n'est alors plus suffisante : pour croître au-delà de 1 à 2 mm³ (petites tumeurs infra-cliniques), une tumeur doit recevoir de l'oxygène et des nutriments, sinon elle reste hypoxique (en manque d'oxygène) et finalement se nécrose. La tumeur doit alors attirer à elle des vaisseaux sanguins pour lui apporter l'oxygène nécessaire. Pour cela, les cellules tumorales vont envoyer des signaux pour déclencher la formation de nouveaux vaisseaux.

L'angiogenèse constitue une étape du développement de nombreux cancers, car la capacité pour une tumeur cancéreuse de grossir et de métastaser est étroitement liée à la prolifération des nouveaux vaisseaux sanguins qu'elle induit.

L'endothélium vasculaire est la couche la plus interne des vaisseaux sanguins, celle en contact avec le sang. Il est constitué de cellules endothéliales. Alors que dans les tissus normaux le réseau vasculaire est extrêmement hiérarchisé, ce n'est pas le cas dans les tumeurs. Des signaux proangiogéniques induisent une prolifération massive de cellules endothéliales, ce qui explique que les tumeurs sont très vascularisées. Mais ces réseaux vasculaires sont extrêmement denses et instables. En effet, même si les tumeurs sont très vascularisées, elles ne sont pas pour autant extrêmement bien perfusées, car ces réseaux ne sont pas bien "finalisés". Par conséquent, il persiste en permanence dans ces tumeurs des zones qui ne sont pas correctement vascularisées et qui continuent à être hypoxiques (manquer d'oxygène). Cette hétérogénéité tumorale est très importante, car c'est elle qui permet d'entretenir en permanence la formation de nouveaux vaisseaux [11].

Au cours du développement tumoral, différentes étapes se succèdent (Figure 17) : un stade précancéreux, la tumeur n'a pas besoin de vaisseaux sanguins, elle est avasculaire, un stade malin (cancéreux) : un signal angiogénique (switch angiogénique) déclenche l'angiogenèse suite au manque d'oxygène (hypoxie), une vascularisation de la tumeur qui permet sa croissance, une invasion des cellules tumorales dans le réseau vasculaire, appelée intravasation, des cellules tumorales circulent via les réseaux sanguins ou lymphatiques, des métastases s'établissent dans des tissus distants, pour finir par un cycle d'induction de l'angiogenèse déclenché par ces métastases de manière à être vascularisées et à proliférer.



L'angiogenèse est sous la dépendance du facteur de croissance vasculaire VEGF (vascular endothelial growth factor), gène cible de HIF (hypoxia-inducible factor), dont la finalité est d'augmenter le débit sanguin vers les tissus privés d'oxygène. Cette régulation de l'angiogenèse par HIF en réponse à l'hypoxie est essentielle, non seulement au cours du développement embryonnaire où elle est vitale, mais aussi après un accident ischémique pour permettre la revascularisation d'un tissu (l'ischémie représente la diminution de l'apport sanguin à un organe, par exemple lorsqu'un caillot sanguin obstrue une artère). L'angiogenèse est une des réponses physiologiques de sauvegarde mais qui, lorsqu'elle survient au sein d'une tumeur, va être délétère en favorisant la croissance tumorale.

Les cellules tumorales sont donc capables d'exprimer des facteurs de croissance régulés par l'hypoxie. C'est le cas du facteur de croissance vasculaire VEGF qui est le principal facteur activant la croissance des vaisseaux sanguins qui vont irriguer la masse de cellules tumorales [11]. Le VEGF est sécrété par la tumeur, il va agir sur les cellules vasculaires, car elles expriment à leur surface une protéine appelée le récepteur du VEGF, ce sont les VEGFR de type 1, de type 2 ou de type 3. Ces récepteurs sont variablement exprimés par les cellules endothéliales, vasculaires, lymphatiques et les précurseurs myéloïdes. Le VEGFR2, majoritaire sur les cellules endothéliales vasculaires, est fonctionnellement le plus important car il permet la prolifération, l'invasion, la migration, la survie et l'activation de ces cellules ainsi que l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux.

En situation physiologique de normoxie, la sous unité alpha de la protéine HIF est hydroxylée par les proline et asparagine hydroxylases. HIF alpha est ainsi complexé par les ubiquitines grâce à la protéine VHL. La formation de ce complexe aboutit à la destruction de HIF alpha par le protéasome. En situation d'hypoxie ou en cas de mutation d'HIF alpha, l'hydroxylation est impossible et les sous unités alpha et beta d'HIF peuvent s'associer. La translocation nucléaire d'HIF alpha + beta permet son interaction avec des promoteurs de gène codant les facteurs pro-angiogéniques tels VEGF ou PDGF. Dans les cellules cancéreuses et le stroma tumoral la production de VEGF est régulée par des facteurs environnementaux et des cytokines (hypoxie, EGF, PDGF...) via des voies de signalisations intracellulaires (Src, HIF, Akt...). Ces voies régulent la transcription d'oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs (Ras, PTEN, VHL...).

II – Réponse Immunitaire Anti-tumorale

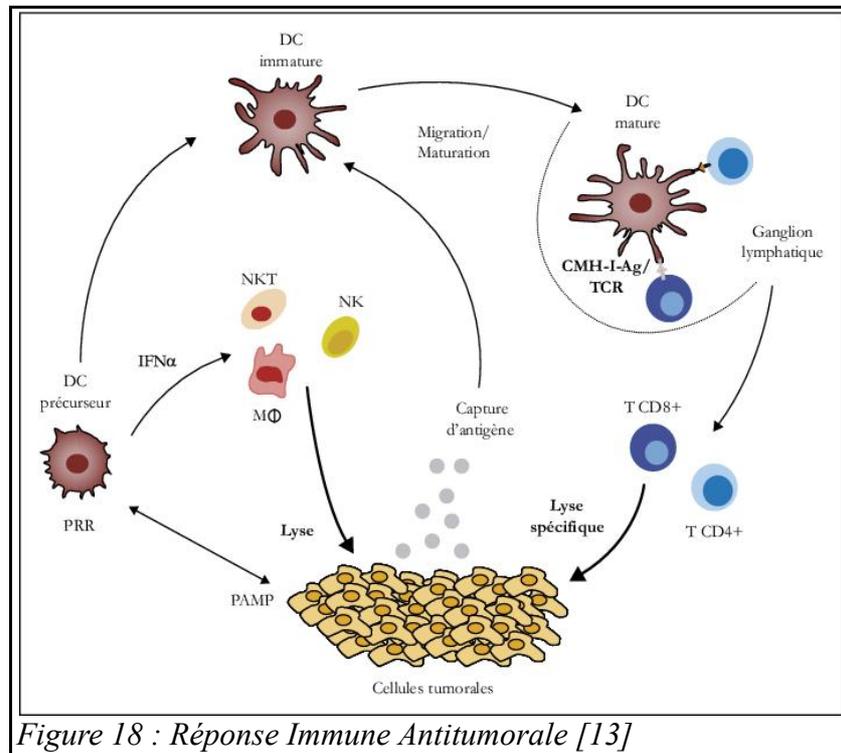
II – A : Réponse Immune et Cancer

Les tumeurs sont potentiellement immunogènes. En effet, l'instabilité génique des cellules tumorales se traduit par l'accumulation de mutations, de translocations et de délétions provoquant l'expression d'antigènes normalement réprimés et produisant de nouveaux peptides antigéniques. Par ailleurs, l'instabilité épigénétique de ces cellules induit la surexpression de certains gènes dépassant ainsi le seuil d'alerte du système immunitaire.

Les effecteurs du système immunitaire (lymphocytes T cytotoxiques CD8⁺ ou auxiliaires CD4⁺) reconnaissent par l'intermédiaire de leur récepteur T (TCR) les peptides antigéniques associés au CMH et présentés à la surface des cellules tumorales. Le développement *in vivo* d'une réponse immunitaire spontanée dirigée contre les tumeurs ou induite à des fins thérapeutiques repose sur l'existence des antigènes tumoraux et l'efficacité de leur présentation aux effecteurs du système immunitaire. Malheureusement, cette réponse reste inefficace pour un grand nombre de tumeurs. Il apparaît ainsi nécessaire de prendre également en considération un autre déterminant essentiel de la réponse immunitaire antitumorale qui est la susceptibilité tumorale à la lyse par les effecteurs cytotoxiques (lymphocytes T CD8⁺ et cellules tueuses natural killer ou NK). En effet, l'instabilité génétique des cellules tumorales combinée à la pression de sélection exercée par le système immunitaire conduisent à l'émergence au sein des tumeurs de variants résistants à la réponse immune.

Les cellules et les médiateurs du système immunitaire interagissent entre eux au cœur d'un réseau dynamique, afin d'assurer à l'organisme une protection continue contre les agressions, tout en maintenant la tolérance vis-à-vis du « soi »[12]. La réponse immunitaire innée (ou naturelle) constitue la première ligne de défense et fait intervenir des barrières physiques (épithéliums digestif, bronchique et urogénital), une composante cellulaire (cellules tueuses : NK, neutrophiles et macrophages) ainsi qu'une composante humorale (le complément). Elle est suivie d'une réponse immune adaptative (ou spécifique) qui se caractérise par une mémoire immunologique permettant une destruction plus efficace et plus rapide lors d'un second contact avec le même agent pathogène. Les cellules de la réponse immunitaire innée, telles que les granulocytes, les macrophages et les NK, expriment des récepteurs de surface dits PRR (*Pattern Recognition Receptor*) par le biais desquels elles reconnaissent certains motifs conservés PAMP (*Pathogen Associated Molecular Pattern*), absents à la surface des cellules du soi. Les PRR sont impliqués soit dans la reconnaissance (*scavenger receptors*, lectines de type C), soit dans l'activation cellulaire (TLR ou *Toll-like Receptor*) (Figure 18). La sécrétion de facteurs pro-inflammatoires et la présentation

antigénique sont alors augmentées, induisant l'amplification du recrutement et de l'activation lymphocytaire. De même, l'activation du complément induit le recrutement de cellules de la réponse innée, via des interactions avec ses récepteurs et la lyse de cellules anormales. Ces différentes voies d'activation de la réponse innée non seulement constituent la première ligne de défense contre les agents pathogènes, mais sont également impliquées dans l'activation et la modulation de réponses immunes plus spécifiques et adaptées.



Il existe un concept : celui de l'immunosurveillance des cancers [13]. Celui-ci a été initialement émis par Paul Ehrlich et William Coley au début du siècle dernier. Ses bases fondamentales ont été établies quelques années plus tard par Burnet et Thomas, qui ont émis alors l'hypothèse selon laquelle les lymphocytes T joueraient un rôle essentiel dans la reconnaissance et l'élimination permanentes des cellules tumorales. Cependant, ce n'est qu'avec le développement de nouvelles technologies telles que le ciblage de gènes et la génération de souris transgéniques (invalidées pour l'expression de certains gènes), que cette hypothèse a réellement pu être validée. De nombreux travaux ont démontré l'implication des lymphocytes T dans la réponse immunitaire antitumorale. Des expériences menées chez l'Homme ainsi que dans des modèles expérimentaux montrent que ces lymphocytes, en particulier les lymphocytes T CD8, constituent des effecteurs cellulaires essentiels pour le contrôle et l'élimination des tumeurs.

L'infiltration des tumeurs par les lymphocytes T capables d'éliminer les cellules cancéreuses est désormais clairement admise. Des études épidémiologiques soulignent une corrélation positive entre la présence d'infiltrats lymphocytaires au sein de la tumeur et la survie globale des patients. En effet, sur plus de 500 patients atteints de mélanome primitif, Clark et al. montrent que les individus dont la tumeur est fortement infiltrée par les lymphocytes T CD8+ survivent jusqu'à trois fois plus que les malades chez qui aucune infiltration n'est observée. Des observations similaires ont été faites dans différents types de cancers.

Bien qu'il ait été initialement montré une augmentation de l'incidence de certains cancers chez les individus immunodéprimés, il a été par la suite démontré que ces tumeurs présentaient pour la plupart une origine virale (virus d'Epstein-Barr, virus de l'herpès, papillomavirus) reflétant la susceptibilité accrue de ces patients aux infections. Néanmoins, un risque plus élevé de développer des cancers ne présentant pas a priori d'étiologie virale comme des cancers du poumon, du rein, du côlon, du pancréas et des mélanomes a été observé chez de nombreux patients immunodéprimés suite à une greffe d'organe (rein, poumon). De plus, l'hypothèse que l'action de drogues immunosuppressives est directement responsable de l'augmentation de l'incidence des cancers est consolidée par le fait que des patients recevant de telles thérapies pour d'autres pathologies, telles les maladies auto-immunes (arthrites rhumatoïdes ou lupus érythémateux systémique), présentent les mêmes risques de développer un cancer. L'ensemble de ces études supporte le concept selon lequel le système immunitaire est capable de détecter et d'éliminer des cellules tumorales. Néanmoins, des variants résistants à la réponse immune émergent au sein des tumeurs. Ces variants constituent un obstacle important pour l'efficacité des protocoles d'immunothérapie antitumorale.

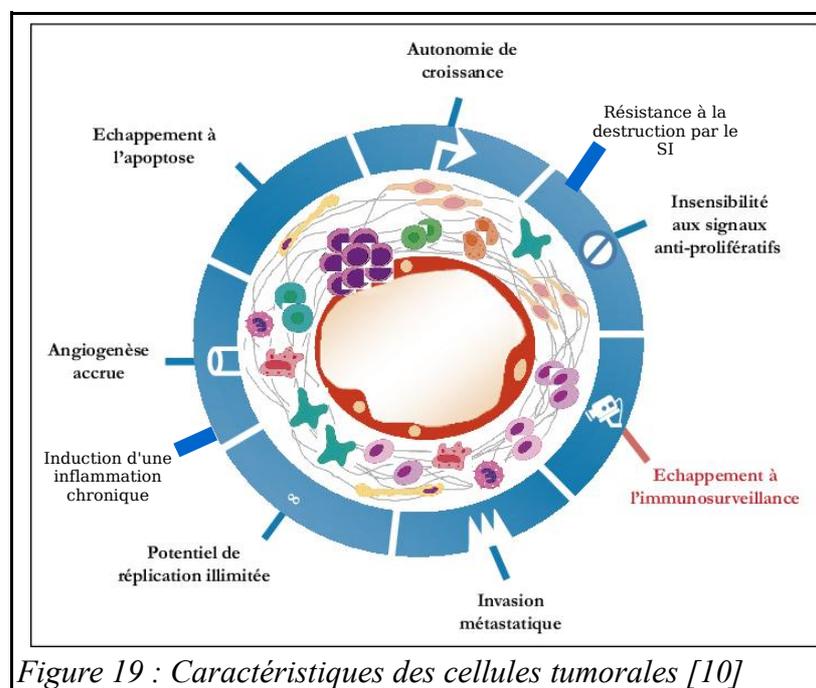
La théorie de l'*immunoediting* des cancers [14], ou théorie des trois E, a été émise par Schreiber et al. suite aux découvertes révélant que le phénotype immunogène d'une tumeur est constamment façonné par les contraintes immunologiques environnantes, même après l'émergence de variants résistants. Dans ces conditions, la progression tumorale semble sous le contrôle de trois phases distinctes : l'élimination, l'équilibre et l'échappement.

L'*immunoediting* assimile le concept d'immunosurveillance à une phase de détection et d'éradication des tumeurs appelée phase d'élimination. Elle est suivie par une période de latence, dite d'équilibre, la plus longue des trois phases, pouvant durer plusieurs années chez l'homme. Les variants émergents portent de nombreuses mutations leur conférant une plus haute résistance aux attaques par le système immunitaire. Le scénario clinique qui démontre vraisemblablement l'existence de ce processus d'équilibre chez l'homme est la transmission de tumeurs de donneurs d'organes à des individus receveurs à l'issue d'une greffe. L'immunodéficience des personnes transplantées faciliterait donc la croissance rapide et progressive des tumeurs initialement maintenues en équilibre par le système immunitaire efficace des donneurs.

A l'issue du processus d'équilibre, une tumeur pourrait esquiver complètement la surveillance et la pression exercée par le système immunitaire pour entrer dans la phase finale : l'échappement. Au cours de cette phase, les variants tumoraux résistants se

développent dans un environnement immunologiquement intact. Cette brèche dans le système immunitaire se produit sans doute lorsque les changements génétiques et épigénétiques ont conféré à ces variants tumoraux une résistance suffisante pour échapper à la détection et à l'élimination mais aussi lorsque la tumeur induit un état de tolérance immunologique favorable à son expansion.

Une conséquence importante du concept d'*immunoediting* est l'immunorésistance intrinsèque de la plupart des tumeurs se développant chez un individu immunocompétent après acquisition des caractéristiques leur permettant d'échapper à l'immunosurveillance (Figure 19).



De nombreux travaux ont mis en évidence différents mécanismes moléculaires permettant à la tumeur d'échapper ou d'interférer avec la réponse immunitaire antitumorale. Ces mécanismes d'échappement peuvent être classés en plusieurs catégories, selon qu'ils soient inhérents aux cellules cancéreuses, au micro-environnement tumoral ou aux effecteurs du système immunitaire.

- *Mécanismes inhérents aux cellules tumorales*

La présentation antigénique par les molécules du CMH est cruciale à la fois dans l'induction et le maintien de la réponse T cytotoxique [2]. Des altérations de l'apprêtement et/ou de la présentation du peptide antigénique ont été fréquemment rapportées dans de nombreuses tumeurs.

L'expression des antigènes tumoraux par les cellules tumorales est souvent hétérogène, même au sein de tumeurs de même type histologique. La diminution de l'expression de ces antigènes est souvent corrélée à une progression de la maladie. En outre, la perte totale d'expression d'antigènes tumoraux a été décrite comme un mécanisme majeur d'échappement tumoral à la réponse immunitaire T induite par des approches immunothérapeutiques. Ce phénomène a été particulièrement bien démontré chez des patients atteints de mélanome, présentant des métastases récurrentes et traités par un transfert adoptif de lymphocytes T spécifiques de l'antigène MART1. L'échappement tumoral à la lyse dans ce cas s'explique par l'émergence de variants résistants ne présentant pas le peptide antigénique dominant contre lequel la réponse spécifique s'est établie. De plus, la perte d'expression des molécules CMH-I est observée dans divers types de tumeurs tels que le mélanome, le carcinome colorectal et le cancer du sein. La déficience en CMH-I permet aux cellules tumorales d'échapper à la lyse induite par les CTLs. Cette déficience peut être totale (altération de la synthèse de la β 2-microglobuline) ou n'affecter qu'un haplotype (perte d'un fragment du chromosome 6), un locus (défaut de transcription) voir même un seul allèle (mutation spécifique). Dans certains cas, on assiste uniquement à une diminution d'expression des molécules CMH-I due à des défauts au niveau des gènes du CMH, de l'apprêtement antigénique ou encore du transport des peptides.

La susceptibilité de la cellule tumorale à la lyse demeure inéluctablement un élément déterminant qui conditionne l'efficacité de la réponse immunitaire antitumorale. Plusieurs mécanismes de résistance tumorale aux fonctions cytotoxiques des CTLs et des cellules NK, impliquant particulièrement la voie perforine-granzyme et la voie des récepteurs à domaine de mort, ont été décrits à ce jour (Figure 20).

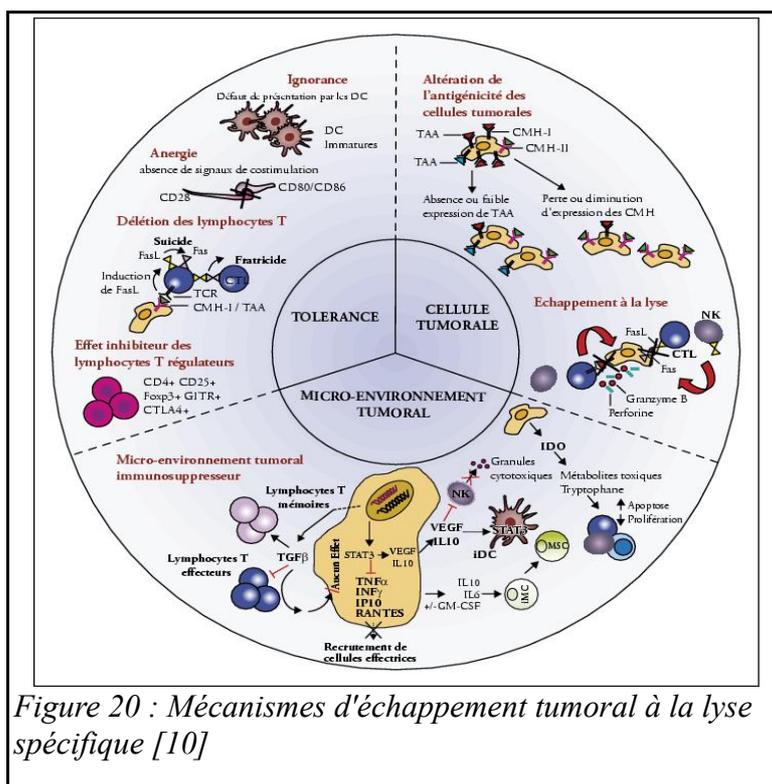


Figure 20 : Mécanismes d'échappement tumoral à la lyse spécifique [10]

La résistance à la lyse tumorale induite par des effecteurs cytotoxiques via la voie perforine-granzyme a été démontrée dans différents modèles tumoraux. Les mécanismes régissant cette résistance interfèrent avec les voies de signalisation pro-apoptotiques menant habituellement à la mort par apoptose des cellules cibles [10]. Des travaux ont ainsi mis en évidence l'échappement à la lyse spécifique des tumeurs exprimant la serpine PL9/SP16, un inhibiteur cellulaire de granzyme B. En effet, il a été démontré que l'expression de cet inhibiteur par les cellules tumorales constitue un moyen d'échappement à la lyse aussi bien in vitro que in vivo. Ainsi, l'expression de l'ARNm de PL9 ou de son homologue murin SP16 a été retrouvée dans certaines lignées tumorales humaines (mélanomes, carcinomes cervicaux, du côlon et mammaires) et murines (carcinomes du côlon et du poumon) respectivement. De plus, chez l'homme, l'expression de la serpine in vivo a été retrouvée dans 39% des lymphomes T, 27% des lymphomes B et 10% des lymphomes hodgkiniens. De manière plus générale, différentes altérations des voies de signalisation pro-apoptotiques mitochondriales, fréquemment observées au niveau des cellules cancéreuses, sont susceptibles d'altérer la lyse tumorale induite par la voie perforine-granzyme et de permettre ainsi l'échappement de la tumeur.

Une résistance à l'apoptose induite par la voie impliquant le récepteur Fas, suite à l'engagement de Fas avec son ligand FasL inductible à la surface des cellules immunitaires effectrices, a été mise en évidence dans un grand nombre de tumeurs. Plusieurs mécanismes ont ainsi été décrits, parmi lesquels un défaut d'expression de Fas au niveau des cellules tumorales. En effet, il a été montré que cette expression est fréquemment diminuée, voire totalement absente, dans plusieurs types de tumeurs aussi bien hématologiques que solides. De plus, des niveaux élevés de Fas solubles, interférant avec Fas membranaire, ont été retrouvés dans les sérums de patients atteints de lymphomes T ou de tumeurs solides. Enfin, un rôle dans la résistance à la lyse de la molécule cFLIP, protéine cytoplasmique anti-apoptotique, a été démontré. En effet, cFLIP agit comme un dominant négatif, inhibiteur de la caspase 8 prévenant ainsi l'apoptose induite par la voie Fas/FasL.

- ***Micro-environnement tumoral***

La croissance incontrôlée des cancers malins, l'invasion des tissus de l'hôte et, par conséquent, l'apparition de métastases s'accompagnent de signaux pro-inflammatoires, généralement sous forme de sécrétion de cytokines et de chimiokines, principaux inducteurs des réponses innées et adaptative. Malgré les conséquences inflammatoires et immunogènes potentielles de l'envahissement tumoral, le système immunitaire reste souvent tolérant vis-à-vis de l'établissement des cancers. En effet, les tumeurs sont capables de moduler les réponses inflammatoires chroniques empêchant ainsi la mise en place de la phase d'élimination et favorisant l'accroissement des processus de transformation et de croissance des cellules malignes[10].

L'activation de NFκB au niveau des cellules immunitaires infiltrant les tumeurs, induit la production de diverses cytokines et chimiokines pro-inflammatoires, dont certaines favorisent la prolifération des tumeurs et leur confèrent un effet anti-apoptotique. Il s'agit de cytokines telles que le TNF, l'IL1, l'IL6 et le CSF1 (colony stimulating factor 1), ainsi que de multiples chimiokines telles que l'IL8. De plus, l'activation de NFκB peut dans certains cas induire la production de molécules chimiques hautement réactives telles que le NO, ROS (reactive oxygen species) et les peroxy-nitrites, imposant un stress oxydatif aux cellules tumorales adjacentes à caractère tumoricide ou carcinogène via l'induction de dommages à l'ADN. Contrairement à la réponse inflammatoire liée à une infection virale ou bactérienne, celle associée aux tumeurs ne semble pas recruter les systèmes immuns inné et adaptatif et peut être aussi bien néfaste que bénéfique au développement tumoral.

De nombreuses données plaident en faveur d'un échappement des tumeurs dû à une inhibition d'émission de signaux de danger empêchant l'agencement de toute réponse immune antitumorale. Stat3, la voie oncogène de signalisation la plus étudiée, permet la modulation du système immunitaire et l'invasion tumorale. En effet, Stat3 est exprimée de manière constitutive dans les cellules tumorales où elle régule négativement l'inflammation, favorise la prolifération cellulaire et prévient l'apoptose. Son activation stimule la

transcription de gènes clés dans le processus de transformation, comme les gènes régulant le cycle cellulaire, les gènes pro-angiogéniques et anti-apoptotiques. Cette voie de signalisation inhibe également la sécrétion par les cellules cancéreuses de $TNF\alpha$, $IFN\beta$, IP10 et RANTES, prévenant ainsi la mobilisation d'effecteurs immuns. De plus, l'activation de Stat3 dans les cellules immunitaires infiltrantes est déterminante et conduit à une modulation des réponses innées et adaptatives. L'inhibition de la réponse innée et de la maturation des DCs par Stat3 contribue à l'échec de sensibilisation et du recrutement des lymphocytes T spécifiques de la tumeur. Enfin, la voie Stat3 guide la transformation des cellules myéloïdes immatures iMC en cellules myéloïdes suppressives MSC et prévient leur différenciation en DC présentatrices d'antigènes et par conséquent la mise en place d'une réponse T spécifique.

Le TGF β (transforming growth factor beta) sécrété par de nombreuses tumeurs humaines, possède des caractéristiques inhibitrices modulant négativement les réponses immunes antitumorales. C'est un inhibiteur de la prolifération cellulaire induisant l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1. Des mutations survenant au niveau de la voie de signalisation du TGF β permettent une prolifération incontrôlée des cellules tumorales dans plusieurs cancers. De plus, la sécrétion de TGF β par les cellules cancéreuses est considérablement amplifiée, elle contribue à l'invasion tumorale et stimule l'angiogenèse. Dans le cadre d'implantation et de croissance tumorale, le TGF β a des conséquences négatives sur le pronostic de l'évolution de la maladie. D'un point de vue immunologique, des études menées *in vivo* et *in vitro* montrent qu'il atténue l'acquisition des fonctions effectrices par les cellules T CD8 $^+$ et proposent des stratégies thérapeutiques basées sur l'inhibition de la voie de signalisation de cette cytokine.

- ***Mécanismes inhérents au système immunitaire ou tolérance***

Dans un contexte tumoral, la tolérance aux tumor associated antigens (TAA) diminue considérablement la pression immunologique et favorise l'échappement des tumeurs au système immunitaire. Bien que la mise en place d'une réponse efficace, corrélée à une absence de la progression de la maladie, soit observée chez certains patients, chez d'autres, des métastases progressent alors même que les lymphocytes T CD8 $^+$, présents dans la tumeur, se révèlent cytotoxiques à l'égard des cellules tumorales autologues *in vitro*. Dans ces conditions, il est inévitable d'admettre l'existence de tolérance à l'antigène *in vivo*. Les mécanismes de tolérance périphérique sont au nombre de quatre : l'ignorance, l'anergie, l'apoptose et la suppression par régulation négative [10].

Les lymphocytes T naïfs ne reconnaissent un antigène que s'il est présenté par des DC. L'induction de la tolérance périphérique est la conséquence d'une présentation antigénique par des DC immatures, en l'absence de signaux de danger. C'est souvent le cas des DC infiltrant les tumeurs, caractérisées par une faible production de cytokines pro-inflammatoires et une faible expression des molécules CD86 et CMH-II. Différents signaux oncogènes exercés par les cellules tumorales ainsi que la voie Stat3 contribuent à l'inhibition

de l'activation des DC. Il a été montré que la signalisation constitutive via BRAF (v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) est à l'origine du relargage de facteurs inhibiteurs contrôlant l'activation des DC dans le mélanome.

L'anergie lymphocytaire est l'incapacité fonctionnelle des lymphocytes T naïfs activés par un antigène à proliférer lorsqu'ils sont restimulés par ce même antigène. Il est maintenant clairement admis que l'activation totale des cellules T nécessite deux types de signaux : la reconnaissance du complexe CMH-peptide et un signal costimulateur. Le blocage de ce dernier inhibe l'activation des lymphocytes T et induit un état d'insensibilité spécifique à l'antigène. In vivo, cet état se traduit par une importante inhibition de la réponse immune observée dans des modèles expérimentaux. Ainsi, une absence d'expression de molécules de costimulation telles que B7-1 et B7-2 par les cellules cancéreuses pourrait conduire à une anergie des cellules T.

Deux mécanismes sont impliqués dans la délétion des lymphocytes T spécifiques de l'antigène [12]. Le premier repose sur l'expression par les cellules tumorales de FasL en l'absence de facteurs de croissance (IL2, IL4, IL15 ...). Selon ce modèle de « contre-attaque », de nombreuses tumeurs exprimeraient FasL (lymphomes, carcinomes pulmonaires, mélanomes...) et induiraient l'apoptose des cellules T via le récepteur Fas. Néanmoins, de nombreux travaux contestent ce modèle, faisant douter de sa pertinence in vivo. Le second mécanisme correspond au phénomène de mort lymphocytaire induite par l'activation ou AICD. En effet, les cellules T activées expriment fortement FasL. Cette forte expression entraîne leur propre mort (suicide) ou la mort des cellules T environnantes. Il semble donc que la stimulation continue des lymphocytes T antitumoraux par les cellules cibles puisse aboutir à la délétion de ces effecteurs par AICD. En effet, il a été démontré chez des patients atteints de leucémie myéloïde chronique la délétion sélective par AICD de CTL de haute avidité spécifique du peptide PR1.

Un grand intérêt a été dernièrement porté sur les lymphocytes T CD4⁺ CD25⁻ (Treg). Cette population lymphocytaire se caractérise par la sécrétion de cytokines immunosuppressives (TGFβ et IL10) et par l'expression de molécules de surface telles que Lag3 (lymphocyte activation gene-3), CTLA4 et GITR (glucocorticoid induced TNF receptor). Ces cellules inhibent après contact cellulaire l'activation et la prolifération des lymphocytes T CD4 et CD8 spécifiques ainsi que la production d'IL2. De plus, certaines cellules Treg expriment PD1 qui, en s'engageant avec son ligand B7-H1, induit l'inhibition de la production d'IL12 par les DC myéloïdes, réduisant ainsi leur capacité à induire une réponse immune efficace.

II – B : Les Antigènes Tumoraux

Quelle que soit la stratégie envisagée dans le développement d'un vaccin antitumoral, la détermination de l'antigène qui sera la cible du système immunitaire est un point essentiel. Il est donc nécessaire de connaître les mécanismes d'oncogenèse et les profils d'expression des antigènes tumoraux.

Les cellules tumorales sont caractérisées par une expression dérégulée de gènes ou des mutations affectant leur fonction. Selon le cas, ces gènes conduisent à une production de protéines anormales, à la surexpression de protéines normales ou encore à l'expression de nouvelles protéines. Le protéasome des cellules cancéreuses va dégrader ces protéines et permettre de présenter des peptides liés au CMH-I à leur surface. Parallèlement, les corps apoptotiques issus des cellules cancéreuses mortes vont être phagocytés par les APC. Des peptides seront présentés via le CMH-II selon la présentation exogène classique et par le CMH-I dans le cas de la présentation croisée. Ces mécanismes d'apprêtement permettront l'initiation de la réponse immune. Trois grandes catégories d'antigènes associés à des tumeurs ou TAA peuvent être définies en fonction des types de dérégulation et de leur profil d'expression.

1 – Les antigènes codés par des gènes mutés ou anormalement exprimés

La catégorie la plus commune d'antigènes tumoraux correspond à des protéines issues de gènes mutés ou anormalement exprimés. Ces gènes sont classiquement associés à un phénotype « malin ».

1 – 1 : Les antigènes « uniques » codés par des gènes mutés

Ces antigènes ont été identifiés au niveau de la séquence de protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire (CDK4), le contrôle de la prolifération (β -caténine) ou l'induction de l'apoptose (CASP-8) [15]. Certaines mutations au niveau des produits du proto-oncogène ras ou du gène suppresseur de tumeurs p53 sont reconnues par des lymphocytes T CD4+ et CD8+. D'autres antigènes de cette catégorie sont des protéines virales. En effet, certains virus sont liés à l'apparition de tumeurs. Le papillomavirus humain (HPV) peut être impliqué dans le cancer du col de l'utérus (protéines E6 et E7), le virus d'Epstein Barr (EBV) dans les lymphomes (protéines BARF0, LMP2) ou encore le virus de l'hépatite B dans les tumeurs hépatiques. Ces antigènes associés aux tumeurs issus de mutations ou d'origine virale pourraient être des candidats intéressants pour l'immunothérapie.

1 – 2 : Les antigènes non mutés surexprimés

Ces antigènes ubiquitaires sont surexprimés spécifiquement dans un nombre important de cellules tumorales d'origines variées. Ils sont produits dans les cellules normales à des niveaux particulièrement faibles, dits cryptiques. Pour cette raison, les CTL spécifiques de ces antigènes reconnaissent les cellules tumorales mais pas les cellules saines. En effet, un seuil d'expression minimal de l'antigène semble être nécessaire pour la reconnaissance par les CTL. Un antigène typique de cette catégorie est la protéine HER-2/neu dont le gène est exprimé dans les tissus normaux et surexprimé dans environ 30% des cancers du sein et de l'ovaire. Des antigènes ont été identifiés par une approche prédictive. Notamment, la sous-unité catalytique hTERT de la télomérase se trouve surexprimée dans plus de 85% des cancers. Des résultats précliniques intéressants permettent d'envisager pour cette catégorie d'antigènes une immunothérapie contre de nombreux types de cancers d'origines histologiques variées. L'expression ubiquitaire de ces antigènes nécessite cependant une étude attentive de l'induction de réactions autoimmunes.

2 – Les antigènes tumeur-spécifiques

Cette catégorie d'antigènes se caractérise par une expression restreinte à un contexte tumoral. Ces marqueurs « parfaits » d'atteinte tumorale restent cependant rares et les plus connus sont ceux de la famille MAGE (Melanoma associated antigen) 1, 2 et 3, GAGE (G antigen) et RAGE (Renal tumor antigen)[15]. La plupart des antigènes MAGE ont été initialement décrits dans les cancers à mélanome mais de nombreux types de tumeurs d'origines histologiques variées les expriment également. C'est le cas pour les carcinomes de la zone tête/cou, les carcinomes hépatiques et mammaires. Par exemple, 48% des mélanomes et 80% des carcinomes hépatiques expriment MAGE-1. Ils ne se trouvent pas dans les tissus sains à l'exception des cellules germinales testiculaires ou de la rétine. Cette expression spécifique des gènes MAGE pourrait être liée à une hypométhylation de l'ADN génomique.

De par leur expression dans un nombre important de tumeurs d'origines variées, ces antigènes sont des candidats privilégiés pour l'immunothérapie antitumorale. Leur expression constitutive dans les testicules et la rétine n'est pas gênante puisque, n'exprimant pas ou peu de molécules du CMH, ces cellules ne peuvent pas présenter les épitopes de MAGE au système immunitaire.

3 – Les antigènes de différenciation

La plupart de ces antigènes ont été décrits dans le mélanome. Ils correspondent à la réexpression d'une protéine caractéristique d'un stade plus précoce de la différenciation cellulaire. Au cours du développement embryonnaire, les cellules neuroectodermiques qui se différencient en mélanocytes expriment de nouvelles protéines. Leur expression va s'éteindre durant les étapes successives de différenciation vers les mélanocytes matures. Dans le cas du mélanome, on constate une augmentation ou une production anormale de ces protéines de la lignée mélanocytaire, et la mise en place d'une réponse cellulaire cytotoxique anti-mélanome dirigée contre certains de leurs épitopes. Les protéines MART-1/Melan-A, gp100, tyrosinase ou encore TRP-1 et TRP-2 font partie de ces antigènes spécifiques[16]. La réponse immune déclenchée peut affecter des mélanocytes sains et engendrer une décoloration de la peau. Cette réponse auto-immune associée à la présence des CTLs réactifs chez des individus sains témoigne d'un mécanisme de rupture de la tolérance périphérique. En l'absence de pathologie, ces protéines sont exprimées de façon cryptique (non présentées au système immunitaire ou présentées en absence de costimulation) et induisent une tolérance périphérique par anergie des lymphocytes T réactifs. Lors de leur surexpression, une présentation associée aux molécules de costimulation conduit à une activation, ou à la réactivation, des cellules T et à la mise en place de la réponse immune. Les effets auto-immuns observés se limitent à une dépigmentation de la peau, les antigènes de cette catégorie sont donc particulièrement intéressants pour une immunothérapie du mélanome. Par conséquent, divers essais cliniques de stratégie vaccinale sont menés sur ce modèle[16]. D'autres antigènes lignée-spécifiques ont également été décrits dans les cancers de la prostate comme le PSA (prostate specific antigen), le PAP (prostatic alkaline phosphatase) ou encore le PSMA (prostate specific membrane antigen).

Chapitre III : Vaccination Préventive et Cancer

I – Vaccination Préventive contre le cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus, second cancer de la femme dans le monde, est responsable d'environ 250 000 décès par an au niveau mondial[17].

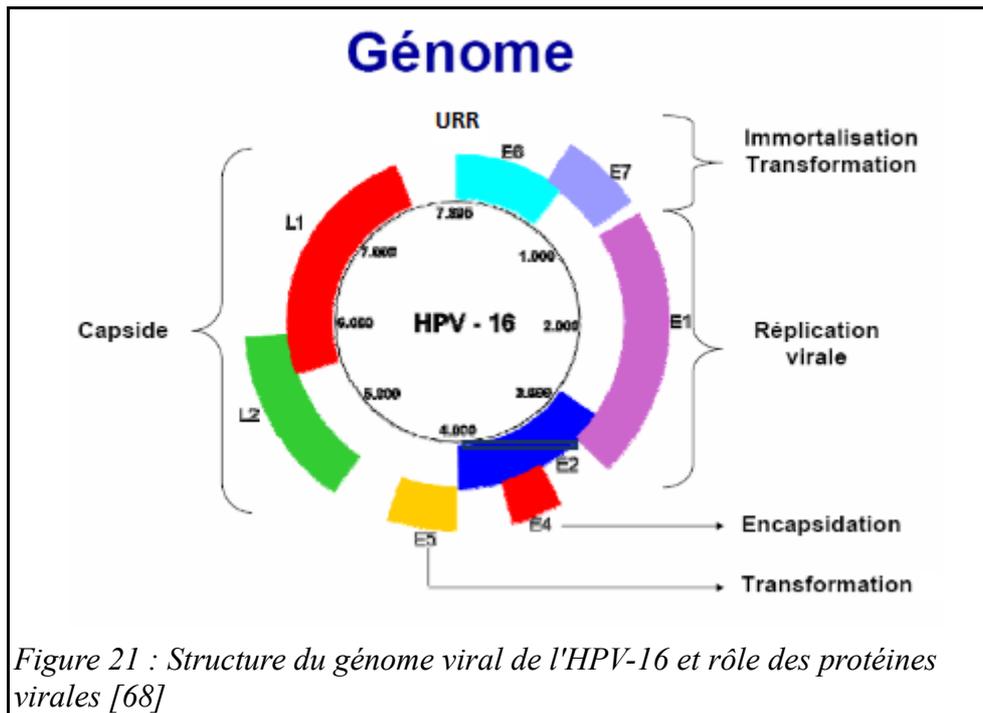
En France, le cancer du col est au huitième rang des cancers de la femme, mais reste le deuxième cancer de la femme jeune. En moyenne, 3400 nouveaux cas sont déclarés par an et environ 1000 décès annuels sont rapportés à ce cancer.

Le cancer du col est quasi inexistant avant 20 ans et atteint son incidence maximale de 20 pour 100 000 chez les femmes de 40 ans. L'incidence se stabilise ensuite autour de 17 pour 100 000 jusqu'aux âges les plus avancés.

Le dépistage des anomalies cytologiques par le frottis cervical a permis, au cours des 20 dernières années, une réduction de l'incidence de ce cancer de près de 3% par an.

Les HPV (*Human Papillomavirus*) dits à « haut risque » sont rencontrés dans plus de 99% des cancers du col utérin. Ce cancer est la première démonstration dans l'espèce humaine du caractère viro-induit obligatoire d'une tumeur solide. Les deux génotypes les plus fréquemment rencontrés sont les HPV-16 et 18, associés respectivement à 50 et 20% des cancers du col. Des cofacteurs existent, tels que les déficits immunitaires, le tabagisme, la contraception orale, la multiparité, etc. Mais l'agent nécessaire, bien que non suffisant, est l'HPV à haut risque.

Les HPV appartiennent à la famille des *Papillomaviridae*. Ces petits virus sont constitués d'une capsidie icosaédrique de 45 à 55 nm de diamètre formée de 72 capsomères. Le génome viral formé de 8000 paires de bases se présente sous la forme d'ADN circulaire bicaténaire, dont seul un brin est codant et comporte trois régions : la région précoce E (*early*) codant des protéines non structurales (E1 à E7) dont les oncoprotéines, la région tardive L (*late*) codant des protéines structurales dont les protéines de capsidie (L1 et L2) et enfin une région non codante URR (*upstream regulation region*) (Figure 21).



Les HPV possèdent une spécificité d'hôte très étroite. Plus de 120 génotypes ont été retrouvés chez l'être humain. Ils sont répartis en différents types phylogéniques en fonction de leur pourcentage de concordance nucléotidique et de leur tropisme cutané ou muqueux (général, anal, oral). Quarante ont un tropisme génital et 15 sont oncogènes (à haut risque), responsables des dysplasies et cancers du col utérin, de l'anus et de la vulve. Ces 15 virus, détectables par les techniques de biologie moléculaire (capture d'hybrides, PCR) sont classiquement répartis en type $\alpha 9$ (16,31,33,35,52,58), $\alpha 7$ (18,39,45,59) ou non $\alpha 7$ - $\alpha 9$ (51,56,66,68,73).

Les infections à HPV sont les infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes, car leur contagiosité est élevée. Ces infections sont le plus souvent asymptomatiques et transitoires. Dans une minorité de cas, le portage viral persiste au-delà d'une année qui est le délai moyen de la clairance virale. Cela favorise l'intégration virale au sein des cellules épithéliales, à l'origine d'une possible transformation tumorale. En effet, toutes ces anomalies du tissu épithélial ne progressent pas. L'évolution potentielle vers le cancer demande de nombreuses années et passe par différents stades d'anomalies histologiques intraépithéliales préinvasives. Seules les lésions intaépithéliales de haut grade ou néoplasies intracervicales (CIN) 2 et 3 sont à risque de cancer invasif.

Les HPV dits à « bas risque » sont responsables de pathologies génitales non malignes et non dégénératives. Les génotypes 6 et 11 sont à l'origine de 90% des condylomes acuminés anogénitaux. Ils sont aussi impliqués dans la papillomatose orale et laryngée. En France, 300 000 à 600 000 individus sont atteints de condylomes acuminés et le nombre annuel d'épisodes traités varie entre 180 000 et 200 000 [17]. Ces lésions affectent surtout les gens jeunes et leur diagnostic clinique est le plus souvent aisé. Le traitement est en revanche difficile avec un taux de récurrences élevé. Le retentissement psychologique est important et il n'existe pas de moyen de prévention efficace comme par exemple le préservatif.

Par leur fréquence et le risque de lésions précancéreuses, voire de cancer du col qu'elles induisent, les infections à HPV représentent un important problème de santé publique.

I – A. Différents types de Vaccins

Les vaccins prophylactiques ont été conçus grâce à la découverte de la propriété d'autoassemblage en grande quantité de la protéine majeure de capsid L1 du virus HPV dans différents systèmes eucaryotes. Cette propriété permet la formation de pseudoparticules virales VLP (*virus like particles*). Les VLP ont la même morphologie que celle des virions, mais ne contiennent pas de génome viral. Elles ne présentent donc aucun risque infectieux ou oncogène. Les vaccins à base de VLP sont produits par l'insertion du gène L1 (gène indemne de séquence oncogène) dans des cellules d'insectes (infectés par des baculovirus) ou dans des levures (*saccharomyces cerevisiae*). L'injection des VLP chez l'homme permet la production de titres élevés d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine L1. Ces anticorps vont transsuder à travers les muqueuses génitales et être présents dans les sécrétions cervicovaginales pour neutraliser le virus au moment de la première exposition.

L'objectif vaccinal est d'assurer la meilleure prévention possible de l'infection par HPV. Les génotypes 16 et 18 ont été privilégiés, car responsables de la majorité des cancers du col de l'utérus.

Deux vaccins utilisant la technologie des VLP L1 sont actuellement parvenus à un stade de développement clinique suffisamment avancé pour autoriser leur mise sur le marché.

Le vaccin quadrivalent Gardasil® (Sanofi Pasteur MSD, West Point, Pennsylvanie) est une formulation au sel d'aluminium dirigée contre les HPV 16 et 18, ainsi que les HPV à bas risque 6 et 11. Il protège donc en plus des condylomes acuminés. Par ailleurs, certaines lésions intraépithéliales de bas grade sont induites par de génotypes à bas risque.

Le vaccin bivalent Cervarix® (GlaxoSmithKline, Rixensart, Belgique/MedImmune, Gaithersburg, Maryland) est dirigé contre les HPV oncogènes à haut risque 16 et 18. Ce vaccin utilise un adjuvant original le ASO4 qui aurait la particularité de stabiliser les pseudoparticules virales au cours du stockage et d'induire un pic de titre d'anticorps avec de plus faibles doses d'antigènes. Par ailleurs, à concentration vaccinale égale, la réponse humorale induite par l'adjuvant serait plus importante et plus durable que la formulation au seul sel d'aluminium.

1 – Vaccin Monovalent HPV-16

Dans une étude randomisée en double insu sur un vaccin monovalent HPV-16, 2392 femmes de 16 à 23 ans ont reçu par voie intramusculaire trois doses de vaccin VLP L1 HPV-16 ou un placebo[18]. Le schéma d'administration était zéro, deux et six mois. Le suivi moyen était de 17,4 mois. Les résultats ont été analysés chez 1533 femmes indemnes d'infection à HPV à l'inclusion et qui ont respecté le protocole. Aucune infection ni dysplasie n'était observée dans le groupe vaccin (n=768), alors que l'incidence de l'infection persistante à HPV-16 était de 3,8% chez les femmes du groupe placebo (n=765). L'efficacité vaccinale était donc de 100% (95% IC 90-100%) sur la prévention des infections persistantes à HPV-16.

Les résultats de la vaccination monovalente à plus long terme dans cette cohorte sont rapportés dans le tableau suivant. Ils confirment l'efficacité vaccinale sur la prévention des infections persistantes à HPV-16 et des lésions intraépithéliales de haut grade viro-induite.

Étude	Mao	Harper	Villa
Types de VLP L1 HPV	16	16,18	6, 11, 16, 18
Adjuvant	Aluminium	ASO4	Aluminium
Laboratoire	MSD	GSK	MSD
Site d'étude	USA	USA, CA, BR	USA, EU, BR
Patientes randomisées (n)	2391	776	552
Protocole respecté (n)	1505	694	241
Age des patientes (ans)	16-23	15-25	16-23
Calendrier vaccinal (mois)	0-2-6	0-1-6	0-2-6
Durée du suivi (ans)	3,5	4,5	5
<i>Infections persistantes aux HPV présents dans le vaccin</i>			
Vaccin/placebo (n)	7/111	0/7	7/45
Efficacité [% (IC95%)]	94 (88-98)	100 (34-100)	96 (83-100)
p	<0,01	0,006	non défini
<i>Lésions cervicales viro-induites</i>			
Vaccin/placebo (n)	0/12	0/8	0/6
Efficacité [% (IC95%)]	100 (65-100)	100 (42-100)	100 (12-100)
p	<0,01	0,003	non défini

2 - Vaccin Bivalent HPV 16, 18

Dans une étude randomisée en double insu, 1113 femmes de 15 à 25 ans ont reçu trois doses de vaccin VLP L1 HPV 16 et 18 (n=560) ou un placebo (n=553) par voie intramusculaire[18]. Le schéma d'administration était zéro, un et six mois. A 27 mois, l'efficacité vaccinale était de 100% (95% IC 47-100%) sur la prévention des infections persistantes à HPV 16 et 18 lorsque le protocole était respecté (p=0,007). L'efficacité était de 93% (95% IC 70-98%) sur les anomalies cytologiques induites par les HPV 16 et 18 (p<0,001).

Les résultats de la vaccination bivalente de cette étude à 4,5 ans sont rapportés dans le tableau ci-dessus. Ils confirment l'efficacité vaccinale des infections persistantes à HPV 16 et 18 et des lésions intraépithéliales supérieures ou égales à CIN1. L'extension du suivi de ces femmes à 5,5 ans a montré que l'efficacité était de 100% (95% IC 33-100%) sur la prévention des dysplasies cervicales supérieures ou égales à CIN2 [18].

La plus grande série randomisée sur le vaccin bivalent concerne 18 644 femmes de 15 à 25 ans Cervarix®. L'objectif principal était la prévention des dysplasies cervicales supérieures ou égales à CIN2 liées aux HPV 16 ou 18 (seuls ou associés à d'autres génotypes) dans un sous-groupe de 15 626 femmes naïves. L'efficacité vaccinale était de 100% (97% IC 74-100%) sur la prévention des dysplasies supérieures ou égales à CIN2 exclusivement attribuées aux HPV 16 et 18.

3 – Vaccin quadrivalent HPV 6, 11, 16, 18

Dans une étude randomisée en double insu, 552 femmes âgées de 16 à 23 ans ont reçu trois doses de vaccin VLP L1 HPV 6, 11, 16, 18 (n=277) ou un placebo (n=275) par voie intramusculaire[19]. Le schéma d'administration était zéro, deux et six mois. A 36 mois, l'efficacité vaccinale était respectivement de 90% (95% IC 71-97%) pour les infections persistantes à HPV 6, 11, 16, 18 (p<0,001) et de 100% (95% IC 16-100%) pour les lésions cliniques (p=0,015), qu'il s'agisse de dysplasies cervicales ou de verrues génitales. L'efficacité dépendait peu du type viral : elle était de 100% pour les HPV 6 et 11, de 86% pour l'HPV 16 et de 89% pour l'HPV 18.

Les résultats de la vaccination quadrivalente de cette étude confirment l'efficacité vaccinale sur la prévention des infections persistantes à HPV 6, 11, 16 et 18, des condylomes et des lésions intraépithéliales supérieures ou égales à CIN1.

La plus grande série randomisée sur la vaccin quadrivalent concerne 12 167 femmes de 15 à 26 ans vaccinées par Gardasil® ou placebo[19]. L'objectif principal était la

prévention des dysplasies cervicales supérieures ou égales à CIN2 associées aux HPV 16 ou 18 dans un sous-groupe de 10 565 femmes naïves. L'efficacité vaccinale était de 98% (96% IC 86-100%) lorsque le protocole était respecté, avec un recul moyen de trois ans.

L'analyse combinée de ces différentes études permet d'inclure un total de 20 583 femmes séparées en trois groupes : protocole respecté (vaccination complète, sérologie et PCR négatives le premier jour et le septième mois), protocole respecté sans restriction (vaccination complète ou incomplète, sérologie et PCR négatives le premier jour pouvant devenir positive le septième mois) et en intention de traiter (toutes les femmes y compris celles ayant une sérologie ou une PCR positive à l'inclusion). Le vaccin quadrivalent était efficace pour prévenir les dysplasies cervicales \geq CIN2 induites par HPV 16 ou 18 lorsque le protocole était respecté avec ou sans restriction : 99% (95% IC 93_100%) et 98% (95% IC 93-100%) respectivement [19].

Au total, ces trois vaccins ont montré une efficacité supérieure à 90% et significative par rapport au placebo chez des femmes indemnes d'infection à HPV 16 et 18 à l'inclusion avec un recul de 1,5 à trois ans. Ils ont démontré le prolongement de leur efficacité à cinq ans sur la prévention des infections persistantes (95%) et des dysplasies cervicales (100%) induites par les HPV concernés par la vaccination.

I – B. Immunogénicité

Les concentrations plasmatiques des anticorps anti-HPV 16 et 18 après vaccination monovalente et quadrivalente ont été évaluées par Immunoessai et quantifiées en unités arbitraires (milli-Merck, unité par mL ou mMU/mL)[18][19]. Après vaccination bivalente, les concentrations de ces anticorps ont été évaluées par Elisa et quantifiées en unités arbitraires (Elisa, unité par mL ou EU/mL). Les chiffres exprimés correspondent à des moyennes géométriques de titres en anticorps (GMT).

Pour le vaccin monovalent HPV 16, dans le groupe vacciné, la GMT anti-HPV 16 était significativement augmentée avec un pic à la fin du programme vaccinal au septième mois (1500mMU/mL), puis diminuait à 200mMU/mL au 18ème mois pour rester stable autour de 150mMU/mL jusqu'au 48ème mois. En revanche, il restait bas (inférieur à 5mMU/mL) dans le groupe placebo.

Pour le vaccin bivalent HPV 16 et 18, plus de 99% des femmes de 15 à 25 ans s'immunisaient au décours des deuxièmes et troisièmes injections. Au septième mois, les GMT anti-HPV 16 (9300EU/mL) et 18 (4800EU/mL) des femmes vaccinées étaient respectivement 300 et 200 fois plus élevées que celles des femmes infectées du groupe témoin ayant éliminé spontanément ces virus (30 et 20 EU/mL). Au décours de ce pic

immunitaire survenait une phase en plateau (supérieure à 500 EU/mL) avec un maintien de cette immunité humorale au-delà de quatre ans. Par ailleurs, les titres obtenus après vaccination restaient élevés chez les femmes de plus de 25 ans, laissant présager une extension de la prévention à des tranches d'âge supérieures.

Pour le vaccin quadrivalent HPV 6, 11, 16 et 18, les GMT anti-HPV 6, 11, 16 et 18 au bout de deux mois étaient 12 à 26 fois plus élevées qu'avant vaccination. Au septième mois, les GMT anti-HPV 16 (3900mMU/mL) et 18 (760mMU/mL) des femmes vaccinées étaient respectivement 350 et 150 fois plus élevées que celles des femmes séronégatives du groupe placebo[20]. Au décours de ce pic immunitaire, les GMT anti-HPV 16 et 18 diminuaient sensiblement pour atteindre une phase en plateau stable entre trois et cinq ans (400 et 40 mMU/mL). En revanche, les GMT correspondantes étaient respectivement de 16 et 33 mMU/mL chez les femmes infectées du groupe témoin ayant éliminé spontanément ces virus et inférieures à 5mMU/mL chez les femmes séronégatives. Par ailleurs, les titres obtenus après vaccination étaient significativement plus élevés chez les adolescentes que chez les femmes adultes, laissant présager une prévention efficace dès le plus jeune âge. Enfin, la pratique d'une injection de rappel à cinq ans permet d'obtenir des GMT supérieures à celles observées au septième mois.

Au total, les vaccins induisent une immunité humorale stable et durable. Elle est supérieure à celle obtenue après infection naturelle et clairance virale.

I – C. Tolérance

La tolérance des vaccins a d'abord été évaluée dans les séries préliminaires, puis dans les grandes cohortes vaccinales, pour rechercher les effets indésirables les moins fréquents et définir la sécurité des vaccins en cas de grossesse[18][19].

Pour le vaccin monovalent HPV 16, les effets indésirables ont été recensés au cours des deux premières semaines suivant chaque injection. La fréquence des effets indésirables sur le site d'injection (douleur essentiellement) était de 93% dans le groupe vaccin et de 92% dans le groupe placebo. La fréquence des effets systémiques attribués au protocole était respectivement de 42 et 44%. Sept effets secondaires graves ont été déclarés : quatre dans le groupe vaccin et trois dans le groupe placebo. Aucun n'a été attribué au protocole. Seules 0,4% des femmes incluses initialement dans chaque groupe ont décidé de ne plus participer à la suite de l'étude en raison d'un effet secondaire.

Pour le vaccin bivalent HPV 16, 18, la fréquence des effets indésirables sur le site d'injection (douleur, érythème, tuméfaction cutanée) était de 94% dans le groupe vaccin et de 88% dans le groupe placebo ($p < 0,001$). Les effets systémiques rapportés étaient essentiellement des céphalées, une asthénie et des troubles digestifs.

Pour le vaccin quadrivalent HPV 6, 11, 16 et 18, la fréquence des effets indésirables sur le site d'injection était de 86% dans le groupe vaccin et de 77% dans le groupe placebo. La plupart des effets locaux rapportés étaient une douleur, un érythème ou une tuméfaction cutanée. Les effets systémiques rapportés étaient essentiellement de la fièvre, des céphalées et des nausées.

En comparant les différentes données de tolérance des vaccins bi- et quadrivalent, on observe que la réaction locale au point d'injection était significativement augmentée dans le groupe vaccination HPV par rapport au groupe témoin. La réaction générale tendait à être plus forte chez les femmes vaccinées que chez les témoins. Seules 0,2% des femmes incluses initialement ont décidé de ne plus participer à la suite de l'étude en raison d'un effet secondaire. La fréquence des effets indésirables graves était différente d'une cohorte à l'autre du fait de nuances possibles en terme de définition, de classification ou de population. Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre vaccin et témoin, et le taux d'effets indésirables graves attribués à la vaccination était inférieur ou égal à 0,1%. Aucun décès attribué au protocole n'a été recensé [20].

Les femmes étaient éligibles si leur test de grossesse était négatif à l'inclusion. Cependant, certaines sont devenues enceintes dans les mois qui ont suivi les injections. Les anomalies obstétricales et pédiatriques ont été évaluées selon la date de survenue de la grossesse par rapport à la première injection de vaccin quadrivalent. Aucune différence n'a été observée. La fréquence des anomalies pédiatriques variait d'une cohorte à l'autre en raison d'apparentes nuances en terme de définition et classification. Toutefois, aucune différence significative n'a été observée entre vaccin et témoin. Aucune des malformations congénitales recensées n'a été jugée attribuable aux vaccins. Cependant, par mesure de précaution, en cas de grossesse débutante pendant la vaccination, les injections seront suspendues puis reprises en postpartum.

Au total, la tolérance des vaccins à court et moyen terme est très satisfaisante. Les effets indésirables sont fréquents sur le site d'injection (supérieurs à 80 %) et peuvent s'accompagner d'effets systémiques transitoires dans plus de 50% des cas. Ces effets sont de faible intensité et n'ont quasiment aucune influence sur le déroulement du protocole vaccinal. Le vaccin n'a pas montré d'effet délétère sur l'issue des grossesses.

I – D. Protection croisée

Une extension possible de l'immunogénicité et surtout de l'efficacité des vaccins vers les autres HPV à haut risque doit être recherchée. En effet, les HPV 31, 33, 35 et 52 sont phylogénétiquement proches d'HPV 16 (classe $\alpha 9$), alors que les HPV 18, 39, 45 et 59 sont phylogénétiquement proches d'HPV 18 (classe $\alpha 7$). Les génotypes 31 et 45 sont responsables de près de 10% des cancers du col de l'utérus.

Le vaccin bivalent HPV 16 et 18 a montré qu'il prévenait aussi les infections à HPV 45 avec une efficacité de 94% (95% IC 63-100%) et les infections à HPV 31 avec une efficacité de 55% (95% IC 12-78%)[20]. En revanche, il ne modifiait pas l'incidence des infections à HPV 33, 52 ou 58 par rapport au placebo. Par ailleurs, le vaccin bivalent n'a pas démontré son efficacité sur la prévention des lésions supérieures ou égales à CIN2 induites par les quinze types d' HPV à haut risque détectés par capture d'hybride HC2.

Concernant le vaccin quadrivalent HPV 6, 11, 16 et 18, la capacité des anticorps sériques produits par dix femmes vaccinées à neutraliser une infection contre HPV 31, 45, 52 et 58 a été évaluée[21]. Ces anticorps ont réagi et se sont liés de façon croisée avec les VLP de types 31, 45, 52 et 58, apparentés aux types présents dans le vaccin. En utilisant le test de neutralisation des pseudovirions, ces anticorps ont été capables de neutraliser l'infection par les pseudovirus de types apparentés à ceux contenus dans le vaccin. In vitro, le sérum de chacune des dix femmes vaccinées a neutralisé les pseudovirions HPV 16 et 18. Le sérum de huit femmes sur dix a neutralisé les pseudovirions HPV 31 et celui de six femmes sur dix les pseudovirions HPV 45.

La vaccination quadrivalente n'a pas été évaluée sur la prévention des infections persistantes liées aux HPV non 16, non 18. Cependant, dans un sous-groupe de femmes naïves pour HPV 16 et 18 à l'inclusion, 95 des 4693 vaccinées et 130 des 4703 placebo ont développé des lésions de haut grade induites par d'autres HPV à haut risque, montrant une efficacité vaccinale de 27% (95% IC 4-44%)[21]. De même, dans la population en intention-de-traiter issue de l'analyse combinée des essais randomisés, l'efficacité vaccinale n'était que de 18% (95% IC 7-29%) sur les CIN2 et 3 induits par tout type d' HPV à haut risque.

Au total, une protection croisée est possible sur HPV 31 et 45, voire 52 en terme de réaction immunitaire pour le vaccin quadrivalent ou d'infection virale pour le vaccin bivalent.

I – E. Stratégies Vaccinales

Compte tenu de la prévalence de l'infection HPV chez les jeunes filles dès leurs premiers rapports, de leur bonne réponse immunitaire et de l'inefficacité des vaccins chez les femmes déjà infectées par HPV 16 et 18, les adolescentes avant le début de leur activité sexuelle sont la cible privilégiée. Cependant, le début de l'activité sexuelle est variable selon les pays. En effet, l'âge moyen des premiers rapports est de 17 ans en France et seules 3 et 9% des filles ont débuté leur vie sexuelle avant 15 et 16 ans. En revanche, aux États Unis, 24% des filles de moins de 15 ans et 40% des filles de moins de 16 ans sont actives sexuellement. Ces discordances observées dans deux pays industrialisés sont surprenantes, peuvent être liées à des biais de sélection ou d'interprétation et expliquent sans doute les différences de politique vaccinale. Par ailleurs, le risque de contamination est présent même en cas de rapport non pénétrant [17].

Ces données sont en faveur de la vaccination préférentielle des jeunes filles de 14 ans et moins. La vaccination serait ainsi faite avant le début de l'activité sexuelle, au même moment que certaines injections de rappel prévues par le calendrier vaccinal français. Cette population jeune est encore relativement accessible pour laisser espérer une bonne adhésion, facteur de succès en santé publique.

La vaccination de rattrapage des jeunes femmes de plus de 14 ans ayant une activité sexuelle ancienne et régulière est envisageable. Elle pourrait être adaptée aux résultats des prélèvements virologiques cervicaux, compte tenu de l'absence d'influence du vaccin sur la clairance des HPV 16 et 18. Cependant, les tests de génotypage ne sont pas disponibles en routine et peu rentables dans cette indication. En effet, 5,4 à 9,1% et 2,3 à 3,9% des jeunes femmes participant aux essais vaccinaux sont porteuses à l'inclusion d'un ADN HPV 16 ou 18[17]. De plus, le risque d'avoir une co-infection par HPV 16 et 18 au moment de la vaccination est inférieur à 0,5%.

Après que la vaccination quadrivalente ait obtenu l'approbation des autorités de santé en 2006, les différents pays ont établi des recommandations pour définir l'âge ou la tranche d'âge idéale de la vaccination. Toutes ces recommandations proposent de vacciner en priorité les adolescentes avant les premiers rapports sexuels. En revanche, les recommandations de la vaccination de rattrapage varient beaucoup selon les pays. Elles pourraient cependant être appliquées à toutes les femmes jusqu'à 25 ans (Cervarix®) ou 26 ans (Gardasil®), limites d'âge supérieures mentionnées dans les AMM, quelque soit l'ancienneté de leur vie sexuelle, étant donné le faible risque de co-infection par HPV 16 et 18 à un moment donné.

En France, Le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) recommande la vaccination des jeunes filles entre les âges de 11 et 14 ans avec un rattrapage jusqu'à 19 ans révolus. Le schéma de primovaccination comporte trois doses de 0,5 ml administrées à t0, puis à 1 mois (bivalent) ou 2 mois (quadrivalent) et à 6 mois.

Quelle que soit la politique vaccinale appliquée, le dépistage reste indispensable en raison de la faible efficacité des vaccins sur la prévention des lésions cervicales induites par les autres types d' HPV, de l'absence d'effet thérapeutique chez les femmes infectées ou ayant des lésions viro-induites et des probables difficultés à couvrir toute la population malgré ces recommandations.

La vaccination des garçons pourrait avoir un double intérêt. D'une part, elle permettrait de diminuer la fréquence des verrues anogénitales et autres cancers de l'anus, du pénis et ORL. D'autre part, elle participerait indirectement au contrôle des infections à HPV et des maladies génitales et anales viro-induites de leurs partenaires. Cependant, les modèles mathématiques montrent qu'en cas de large couverture vaccinale féminine, la vaccination des garçons offre peu d'intérêt en terme de prévention des maladies cervicales et rapport coût/bénéfices. La vaccination conjointe des garçons et des filles ne serait efficace qu'en cas de faible couverture vaccinale.

La tolérance et l'immunogénicité de la vaccination quadrivalente ont été évaluées chez des garçons de dix à quinze ans, puis comparées avec celles des filles du même âge ou plus âgées (16-23 ans)[21]. Une séroconversion était obtenue dans 100% des cas un mois après la troisième injection de vaccin quadrivalent quel que soit le sexe. Le titrage des anticorps anti-HPV 6, 11, 16 ou 18 était aussi élevé chez les garçons de dix à quinze ans que chez les filles du même âge. La fréquence des effets indésirables rapportés au vaccin était identique dans les deux groupes.

Au total, les garçons de dix à quinze ans réagissent à la vaccination quadrivalente et la tolèrent aussi bien que les filles du même âge.

II – Vaccination Préventive contre le cancer du foie induit par le virus de l'hépatite B

Les cancers chez l'Homme sont très souvent provoqués par des virus. Le virus de l'hépatite B (VHB) est par exemple fréquemment à l'origine du cancer du foie. Une longue période s'écoule cependant entre la primo-infection et le développement de la tumeur. Les conséquences éventuelles de la vaccination sur l'incidence des tumeurs du foie sont donc nécessairement retardées.

L'incidence du cancer primitif du foie dont la principale forme est le carcinome hépatocellulaire (CHC) varie considérablement d'une région du monde à l'autre. Les zones géographiques où l'incidence est la plus élevée (supérieure à 15 cas par 100 000 habitants de sexe masculin) sont l'Extrême-Orient, l'Asie du sud est, les îles du Pacifique et la plupart des pays d'Afrique subsaharienne. Une grande disparité existe cependant au sein même de ces régions et c'est initialement chez certains peuples de l'Afrique australe ou dans la région du Qidong en Chine que les incidences les plus élevées ont été mesurées (supérieures à 110 cas par 100 000 habitants par an). Dans l'ensemble de ces régions, le CHC est souvent la tumeur la plus fréquente chez les individus de sexe masculin. Il existe pourtant un phénomène général de sous-estimation du nombre réel de CHC.

Au cours des dernières décennies, l'épidémiologie a montré que l'incidence du CHC évolue rapidement en tendant à diminuer dans certains pays où elle est historiquement forte, alors qu'elle croît dans les zones où elle était faible. Cette situation serait liée à plusieurs phénomènes : les grands efforts accomplis en matière de santé publique par certains états d'Asie, l'importance prise par l'hépatite C dans les pays à faible risque, l'amélioration de la prise en charge des patients cirrhotiques chez lesquels le CHC tend à devenir maintenant la première cause de mortalité [22].

Parmi les pays à faible incidence, l'Italie, la France, l'Australie et les États-Unis sont ceux où la progression a été la plus notable. Aux États-Unis, l'incidence du CHC a doublé au cours de ces quinze dernières années. La France est également concernée par le phénomène car le foie est devenu le quatrième site anatomique de tumeur maligne chez les hommes après la prostate, le poumon et le côlon. A l'échelle mondiale, le CHC serait donc la cinquième tumeur humaine par l'incidence globale. Le taux de mortalité est approximativement identique à son incidence car le CHC continue d'emporter quasiment tous les patients qui en sont atteints. Le cancer du foie répond, en effet, très mal à la chimiothérapie, la proportion de patients opérables est faible, et le taux de récurrence est élevé.

A l'opposé de cette situation, la large diffusion de la vaccination contre l'hépatite B représente une réussite des politiques de Santé publique au cours de ces dernières années.

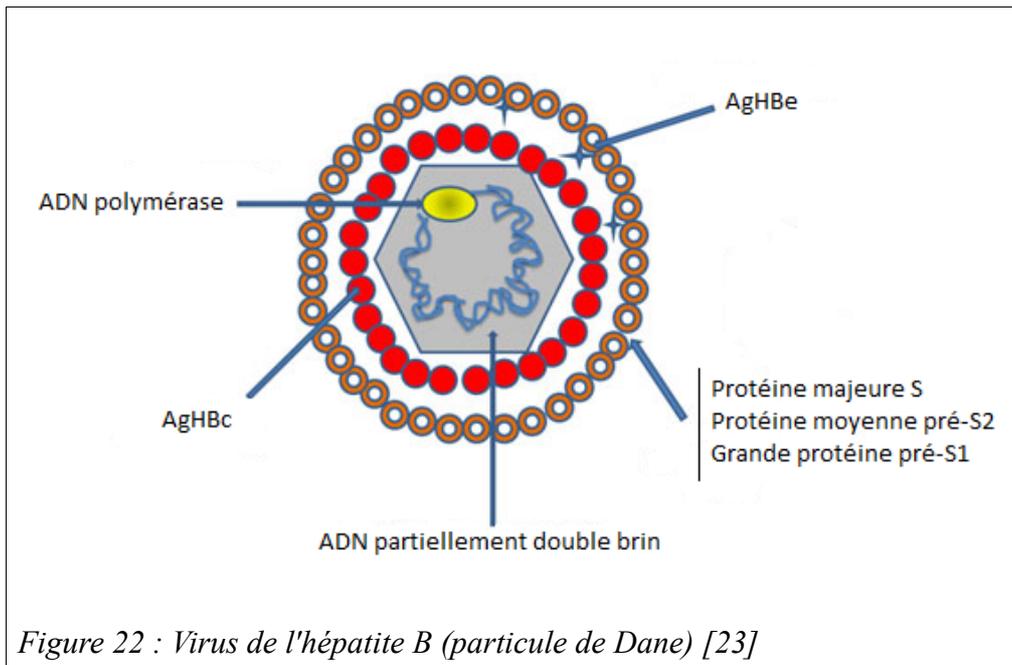
II – A. Hépatite B chronique et évolution vers le CHC

Le VHB reste le premier facteur de risque de CHC impliqué dans plus de 50% des 660 000 nouveaux cas de CHC diagnostiqués annuellement dans le monde[22]. C'est donc à la majorité des CHC que la prévention vaccinale s'oppose quand elle est mise en place. En 2005, une synthèse des données épidémiologiques par l'Organisation mondiale de la santé évaluait à environ deux milliards le nombre de personnes ayant été infectées par le VHB. Parmi celles-ci, 350 millions demeuraient chroniquement infectées. En raison de la sévérité des conséquences de l'infection chronique et de l'importance de la population concernée, le VHB est responsable d'environ un million de morts par an dans le monde. On estime à 10-30% le risque de développer au cours de la vie une cirrhose et/ou un CHC pour les porteurs chroniques du VHB. Une fois la cirrhose installée, l'incidence annuelle du CHC varie de 0,8 à 4,1% selon les régions en fonction de l'impact conjugué de cofacteurs comme l'aflatoxine B1 ou la consommation d'alcool. Le rôle tumorigène du virus est bien établi. Des études cas-témoin menées dans toutes les régions du monde ont démontré que l'infection chronique par le VHB est beaucoup plus commune parmi les patients atteints de CHC que chez les individus témoins. Ce risque est encore accru chez les individus porteurs de l'antigène précoce du virus (AgHBe pour *early*) qui témoigne d'une réplication virale active. Le VHB a donc un rôle prépondérant dans l'épidémiologie du CHC. La grande majorité des CHC surviennent, en effet, dans les zones où le VHB est fortement endémique comme l'Extrême-Orient et l'Afrique subsaharienne. Le CHC est le plus souvent diagnostiqué à la maturité des individus (cinquième à septième décennie), mais il peut, dans les régions de forte incidence, survenir également chez de jeunes adultes ou même chez l'enfant. Enfin, il faut noter que dans toutes les régions du monde l'incidence du CHC est deux à quatre fois supérieure chez les hommes que chez les femmes.

Le virus de l'hépatite B fait est un virus enveloppé faisant partie de la famille des *Hepadnaviridae*. Il en existe plusieurs sous-types définis par les déterminants de surface a, d ou y, w ou r. Il possède un ADN circulaire partiellement double brin associé à la polymérase virale, ainsi qu'une capsidie icosaédrique (Figure 22). Il existe deux types de particules : les particules de Dane correspondant au virion B infectieux, et les particules vides, non infectieuses, ne comportant que l'enveloppe.

Dans les zones de forte endémicité, les modes de propagation les plus courants de l'hépatite B sont la transmission périnatale (de la mère à l'enfant) et horizontale (exposition à du sang infecté), notamment entre un enfant infecté et un enfant non infecté pendant les 5 premières années de vie. L'apparition d'une infection chronique est très fréquente pour les nourrissons infectés par leur mère ou avant l'âge de 5 ans.

L'hépatite B se propage aussi par exposition percutanée ou à travers les muqueuses, et par le biais de la salive, des écoulements menstruels ou des sécrétions vaginales et séminales. Une transmission sexuelle de l'hépatite B peut aussi intervenir, en particulier chez les hommes non vaccinés ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes et chez les personnes hétérosexuelles ayant des partenaires multiples ou des contacts avec des travailleurs du sexe.



À l'âge adulte, l'infection débouche sur une hépatite chronique dans moins de 5% des cas. Le virus peut aussi se transmettre lors de la réutilisation d'aiguilles ou de seringues en milieu de soins ou parmi des personnes consommatrices de drogues par injection. En outre, l'infection peut se produire pendant des actes médicaux, chirurgicaux ou dentaires, des tatouages ou lors de l'utilisation de rasoirs ou d'objets similaires contaminés par du sang infecté.

Le facteur de risque principal d'apparition d'un carcinome hépatocellulaire est la cirrhose. En effet, la majorité des CHC se développent sur un foie cirrhotique. Un premier mécanisme de carcinogénèse apparaît donc comme indirect et secondaire au processus de nécrose et de prolifération hépatocytaires, à l'activation de facteurs de croissance (IGFII, $TGF\alpha$, EGF, $TGF\beta$), à la sécrétion de cytokines et la production de radicaux libres, aboutissant à la constitution d'une cirrhose. Ces processus pourraient permettre ensuite la sélection de nodules de régénération monoclonaux, initiés par l'intégration virale pouvant potentiellement évoluer vers un CHC. Le rôle de la cirrhose elle-même reste discuté, l'inflammation (associant nécrose cellulaire, infiltrat inflammatoire et libération de cytokines) joue vraisemblablement un rôle majeur.

Il existe cependant des cas de CHC développés sur des foies non cirrhotiques, présentant seulement des lésions d'hépatite chronique peu active avec une faible activité de régénération. Ces cas sont plus fréquents en Afrique (40 %) qu'en Europe ou au Japon (10 %) et ont été observés chez des sujets non exposés à l'aflatoxine B₁. Ces tumeurs, ainsi que les CHC décrits chez des enfants et développés sur un foie non cirrhotique, suggèrent l'existence de mécanismes de carcinogenèse indépendants de la cirrhose et pourtant associés à la présence du VHB. Plusieurs études, effectuées en Southern blot sur des tumeurs humaines et analysant le profil d'intégration du génome du VHB, ont montré la prolifération clonale de cellules ayant toutes le même site d'intégration du génome viral dans le génome cellulaire. Dans les zones de forte endémie, où la charge virale et le nombre de copies virales présentes dans le foie sont élevés, il est aussi possible d'observer la formation de plusieurs clones tumoraux indépendants avec sites d'intégration différents. Ces résultats moléculaires suggèrent que l'intégration de l'ADN viral dans le génome cellulaire est un événement précoce de la carcinogenèse hépatique liée au VHB.

Au cours de son cycle de réplication (y compris lors d'hépatites aiguës ou fulminantes), le génome du VHB peut s'intégrer dans le génome hépatocytaire de l'hôte et persister dans les cellules infectées. L'intégration du virus peut s'effectuer à proximité d'une région codante du génome, modifier l'expression de ce gène et provoquer ainsi une mutagenèse insertionnelle ou cis-activation. Si le gène en question est impliqué dans la croissance et/ou la différenciation cellulaire, cette mutagenèse insertionnelle peut être une étape de la carcinogenèse hépatique[23]. Chez l'homme quatre cas seulement de mutagenèse insertionnelle ont été bien documentés. Il s'agit de l'intégration du VHB dans les gènes codant pour la cycline A, la mévalonate kinase, le récepteur bêta de l'acide rétinoïque et SERCA 1, une ATPase localisée dans le réticulum sarcoplasmique. L'intégration dans la partie 5' du gène a rendu possible la production d'ARN hybrides (avec une partie virale et une partie dérivée du gène cellulaire) exprimés à partir d'un des promoteurs viraux. Dans les cas de l'intégration du génome viral dans le gène codant pour le récepteur bêta de l'acide rétinoïque et dans celui de la cycline A, il a été possible de montrer qu'une protéine hybride, potentiellement exprimée dans la tumeur d'origine, est transformante. Ainsi, par exemple l'insertion de l'ADN du VHB dans le second intron du gène de la cycline A permet la transcription de deux ARN hybrides (VHB-cycline A) à partir du promoteur Pr_éS₂/S. Dans la protéine chimère (VHB-cycline A), les 152 acides aminés N-terminaux de la cycline (incluant la région de dégradation) sont remplacés par 150 acides aminés provenant du VHB rendant cette protéine chimère non dégradable *in vitro*.

L'intégration virale peut aussi s'effectuer au niveau de régions répétitives et/ou non codantes du génome. Une conséquence possible de ce type d'intégration est l'apparition de réarrangements chromosomiques dans le génome cellulaire (microdélétions, translocation, inversion ou duplication) qui pourraient, par le biais d'une instabilité chromosomique, jouer un rôle dans la tumorigenèse hépatique.

II – B. Les différents vaccins

La première génération de vaccins contre l'hépatite B, d'origine plasmatique, a été supplantée par des vaccins obtenus par recombinaison génétique ; ces derniers sont les seuls autorisés en France aujourd'hui.

Le vaccin Genhevac B Pasteur® est constitué d'une suspension inactivée et purifiée d'AgHBs contenant les protéines S et pré-S, obtenue par clonage et expression du gène viral dans les cellules CHO (cellules ovariennes du hamster chinois). Il existe une seule présentation : seringue préremplie contenant 20 µg d'AgHBs par dose de 0,5 ml.

Le vaccin Engerix B® contient l'AgHBs purifié obtenu par clonage et expression du gène viral dans la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*). Il existe deux présentations : Engerix B 20 microgrammes® : seringue pré-remplie contenant 20 µg d'AgHBs par dose de 1 ml, utilisable chez l'enfant âgé de plus de 15 ans et chez l'adulte, Engerix B 10 microgrammes® : seringue pré-remplie contenant 10 µg d'AgHBs par dose de 0,5 ml, utilisable chez les enfants jusqu'à 15 ans.

Le vaccin HBVaxPro® contient l'AgHBs purifié obtenu par clonage et expression du gène viral dans la levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*). Il existe trois présentations sous forme de seringue pré-remplie contenant : 5 µg d'AgHBs par dose de 0,5 ml, utilisable chez les enfants jusqu'à 15 ans, 10 µg par dose de 1 ml, utilisable à partir de 16 ans et chez les adultes, 40 µg par dose de 1 ml, pour les sujets dialysés ou en attente de dialyse.

Le vaccin Fendrix® contient 20 µg d'AgHBs et un nouvel adjuvant (le 3-o-desacyl-4'-monophosphoryl lipide A) adsorbé sur phosphate d'aluminium qui est un stimulateur immunitaire. Il est indiqué pour les insuffisants rénaux de plus de 15 ans. Ce vaccin n'est pas commercialisé en France.

Il existe également des vaccins combinés :

Le vaccin hexavalent Infanrix Hexa® est un vaccin combiné diphtérique, tétanique, coquelucheux acellulaire trois composants, poliomyélitique, *Haemophilus influenzae b*, qui contient 10 µg d'antigène HBs. Le volume injectable est de 0,5 ml.

Ainsi que le vaccin combiné contre l'hépatite B et l'hépatite A Twinrix® qui existe sous deux présentations : Twinrix® Adultes, seringue pré-remplie contenant 20 µg d'AgHBs recombinant et 720 unités Elisa de VHA (virus de l'hépatite A) entier inactivé par dose de 1 ml, utilisable à partir de l'âge de 16 ans, et Twinrix® Enfants, seringue pré-remplie contenant 10 µg d'AgHBs recombinant et 360 unités Elisa de VHA entier inactivé par dose de 0,5 ml, utilisable chez les enfants jusqu'à 15 ans. Les vaccins sont tous adsorbés sur hydroxyde d'aluminium.

Les vaccins sont administrés par voie intramusculaire. Les vaccins contre l'hépatite B disponibles en France peuvent être administrés suivant un schéma classique de trois doses (de type 0-1-6 mois). Au-delà de ces trois injections, il n'est plus nécessaire d'effectuer des rappels systématiques, la diminution du titre des anticorps anti-HBs sous le seuil de 10 mUI/ml ne signant pas l'absence de protection. Cependant, pour les professionnels de santé, ainsi que chez les personnes à haut risque d'exposition, cette attitude doit être modulée en fonction de l'âge lors de la primovaccination. Une vaccination contre l'hépatite B commencée avec l'un des trois vaccins recombinants actuellement sur le marché peut être poursuivie avec un autre de ces trois vaccins.

Les vaccins recombinants contre l'hépatite B actuellement utilisés sont hautement immunogènes. Les anticorps dirigés contre l'antigène d'enveloppe apparaissent environ un mois après la troisième injection chez plus de 90 % des sujets vaccinés, avec des titres considérés comme protecteurs (titre anti-HBs supérieur ou égal à 10 mUI/ml). Les titres sont souvent très élevés, dépassant 1 000 mUI/ml. Cette séroconversion témoigne de l'acquisition d'une mémoire immunitaire solide démontrée in vivo et in vitro. Ainsi, la diminution du titre des anticorps anti-HBs sous le seuil de 10 mUI/ml ne doit plus être considérée comme une perte d'immunité. Une surveillance de la réponse immune postvaccinale a permis de cerner des facteurs de moindre réponse à la vaccination tels que l'âge (au-delà d'environ 40 ans), le sexe (masculin), l'obésité, le tabagisme et certains groupes HLA. L'efficacité de la vaccination contre l'hépatite B ne se limite pas à la prévention de l'infection par le VHB et de ses complications, en particulier les cancers primitifs du foie ; elle protège aussi indirectement contre l'hépatite Delta qui peut compliquer une hépatite B chronique. Un programme de vaccination universelle des nourrissons ayant été mis en œuvre dans soixante-dix pays, de nombreuses enquêtes démontrent l'efficacité épidémiologique de cette vaccination : à Taïwan, on a observé une diminution du taux de portage du VHB chez les enfants de moins de 12 ans de 9,8 % en 1984 à 1,3 % en 1994, en Italie du Sud, après cinq années de vaccination, la prévalence de l'AgHBs chez les garçons de 5 à 10 ans a été divisée par dix. Elle a également diminué chez les personnes non vaccinées de cette communauté, suggérant une baisse de la transmission . Le succès des campagnes de vaccination apparaît enfin dans la diminution de l'incidence du carcinome hépatocellulaire constatée après dix années seulement à Taïwan et en Corée, cet effet ne se limitant pas à la population vaccinée.

II – C. Conséquences de la vaccination sur l'épidémiologie du CHC

L'existence de cas de CHC pédiatriques dans les pays de forte endémie et l'importance numérique des effectifs enrôlés dans les différentes cohortes rendent possible une évaluation des conséquences de la vaccination contre le VHB sur l'incidence du CHC trente ans après sa systématisation chez les nouveau-nés[24]. Une des conséquences de cette politique de vaccination de masse a été une diminution des CHC chez l'enfant dans au moins trois états d'Asie (Taïwan, Corée du sud et Singapour). On constate à Taïwan une diminution considérable de l'incidence du CHC chez les enfants de mères présentant une répllication virale active. L'incidence globale du CHC chez les enfants taïwanais de six à neuf ans a diminué de 75% par rapport à la période qui précède la mise en place de la vaccination de masse passant de 0,5 à 0,15 cas pour 100 000 chez les enfants nés après 1984. En Corée, en l'espace de quatre ans on a pu mesurer que l'incidence du CHC chez les vaccinés représentait 60% de celle des non vaccinés.

Il est probable qu'étant donné la précocité de certains CHC en Afrique subsaharienne, une diminution significative des tumeurs survenant entre trente et quarante ans pourrait être bientôt observée dans les pays d'Afrique qui ont mis en place la vaccination universelle.

L'incidence résiduelle de CHC chez l'enfant est toujours causée par l'hépatite B chronique puisque la quasi-totalité des enfants qui développent un CHC sont porteurs de l'antigène HBs. A Taïwan, les CHC résiduels de l'enfant sont attribués à l'absence de vaccination, l'échec de la vaccination ou à l'absence d'injection d'immunoglobulines. Globalement, en zone de forte endémie, l'échec de la vaccination est le plus souvent lié à un délai trop important entre la naissance et la première injection vaccinale. Les autres causes d'échec sont le stockage inadéquat des vaccins (chaîne du froid), une administration incomplète des doses ou l'utilisation d'une voie d'administration inappropriée. La contamination de l'enfant in utero qui surviendrait chez 5 à 10% des nouveau-nés de mères infectées entre également en ligne de compte. Toutefois, la présence chez les nouveau-nés d'antigène HBs ou HBe ne signe pas obligatoirement l'infection mais simplement le passage transplacentaire de ces petites protéines virales non accompagnées de virions. L'antigène HBe serait alors responsable d'une anergie postnatale vis-à-vis du virus ce qui faciliterait le passage à la chronicité. Enfin, un taux plus faible d'anticorps anti-HBc chez la mère pourrait augmenter le risque d'infection fœtale. En zone de faible endémie, des facteurs liés à l'hôte comme l'immunosuppression, l'obésité, l'âge et la consommation d'alcool sont les facteurs qui inhibent la réponse au vaccin. La génétique des populations pourrait également jouer un rôle dans le taux d'échec de la vaccination.

La politique de vaccination généralisée semble avoir contribué à l'émergence en Afrique et en Asie de virus mutants, qui pourraient nécessiter la mise au point de nouveaux tests diagnostiques voire même de nouveaux vaccins. A Taïwan et Singapour, on a constaté que les virus mutants pour l'antigène de surface (déterminant a) sont présents chez environ un quart des enfants porteurs d'ADN du VHB. Le déterminant a situé entre les acides

aminés 121 et 149 de l'antigène HBs est considéré comme la cible majeure de la réponse humorale polyclonale. La proportion de ces mutants est significativement plus importante chez les sujets immunisés quand on les compare aux individus non vaccinés. Le traitement des nouveaux-nés par les immunoglobulines anti-VHB ne semble pas impliqué dans l'apparition des mutants car ces derniers apparaissent dans les mêmes proportions chez les nouveaux-nés de mères chroniquement infectées (ils bénéficient de l'injection d'immunoglobulines) et chez ceux dont la mère est indemne (pas d'immunoglobuline). Enfin, la prévalence des variants du déterminant a serait plus élevée chez les patients ayant reçu le vaccin plasmatisque que chez ceux bénéficiant de l'administration du vaccin recombinant. Ce constat suggère que c'est bien la vaccination qui induit la pression de sélection en faveur des isolats mutants. Ces variants ne sont d'ailleurs pas retrouvés chez les mères des enfants infectés. Parmi les mutants, c'est la forme G145R de l'antigène de surface qui serait la plus répandue. On a pu observer dans les régions de faible endémie l'apparition de ces mêmes variants à la suite de traitements par les immunoglobulines anti-VHB ou par les immunosuppresseurs. On sait qu'en zone de faible endémie des variants stables du VHB sont capables de se disséminer dans la population générale à partir de sous-groupes de patients chez lesquels ils auraient été sélectionnés. Ces variants conserveraient leur capacité à se répliquer chez les sujets vaccinés. Cependant, ce fait n'est pas vraiment établi pour les variants les plus fréquents qui n'étant jamais retrouvés chez les autres membres de la famille seraient dotés d'une faible infectiosité.

D'autres populations sont candidates à un traitement par le vaccin contre l'hépatite B. Les 350-400 millions de porteurs chroniques du virus constituent des candidats potentiels à une immunothérapie par le vaccin. Le but de la vaccination thérapeutique est d'élargir ou d'accentuer la réponse immunitaire des lymphocytes T. Les bénéfices à long terme d'une réduction substantielle de l'activité virale sont potentiellement considérables.

III – Perspectives et Recherche

Tous les médecins s'accordent à dire que la prévention est la meilleure arme contre le cancer. Malgré de nombreuses recherches, cette prévention demeure essentiellement comportementale : manger sainement, modérer sa consommation d'alcool, supprimer le tabac, faire de l'exercice, se protéger du soleil ... Si ces pratiques peuvent réduire jusqu'à 50% le risque de cancer, il persiste toujours une part aléatoire, ainsi que certains facteurs non maîtrisables comme les prédispositions génétiques, l'exposition à la pollution ...

Les données précliniques issues de modèles de souris «classiques» portant sur la vaccination anticancéreuse préventive, ainsi que ceux des modèles comparatifs en oncologie, montrent clairement que seuls les animaux portant des lésions précancéreuses, des tumeurs naissantes, et ceux qui sont à risque de développer des métastases ou récidives après élimination de la tumeur primaire sont protégés, ce qui signifie que les vaccins anti-cancer sont efficaces lorsqu'ils sont utilisés dans des contextes prophylactiques, à savoir, la prévention primaire, secondaire et tertiaire, comme dans le concept original de la vaccination. Cependant, les vaccins anti-cancer montrent un potentiel important si ils sont utilisés pour prévenir la croissance tumorale chez les patients sains dits à "risque élevé" de développer un cancer, c'est-à-dire les personnes sujettes à une exposition professionnelle à des agents cancérigènes, ou porteuses de mutations héréditaires comme dans le cancer du sein, et lors du traitement des récidives et des métastases chez des patients cancéreux avec une maladie résiduelle minimale.

Dans ce contexte, il faut également tenir compte que la prévention du cancer est destinée à des individus sains, par conséquent, l'absence d'effets secondaires toxiques est aussi importante que l'efficacité, alors que dans la thérapie du cancer, un certain degré de toxicité est acceptable. Par exemple, certains vaccins thérapeutiques et adjuvants peuvent provoquer des toxicités locales et systémiques ce qui serait interdit dans les vaccins prophylactiques. Les vaccins actuellement utilisés pour la prévention primaire du cancer, tels que ceux contre le VHB et le HPV, ne provoquent que des toxicités de bas grade. Des approches prometteuses testées chez la souris et dans des essais cliniques thérapeutiques, tels que les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire, ne trouveront pas application dans la prévention du cancer humain, à moins que leur toxicité soit considérablement réduite.

A l'heure actuelle, l'application du concept de prévention primaire dans les tumeurs non-associé à une infection est encore confinée à des expériences précliniques. Néanmoins, cette idée a récemment ouvert la voie à la fondation d'un projet, dont l'objectif est de ramener le nombre de décès dus au cancer du sein en 2020 à zéro. Ce projet, soutenu par le *Breast Cancer Coalition Nationale* des États-Unis, est basé sur l'identification des néoantigènes spécifiques au cancer du sein qui sont exprimés dans les premières phases de la cancérogenèse et contre lesquels des vaccins prophylactiques de différents types peuvent être générés. Des essais sont actuellement en cours[25].

Sur le campus de l'Institut Pasteur de Lille, l'équipe mixte de recherche CNRS, Université de Lille animée par le Docteur Nadira Delhem, Maître de conférences à l'Université de Lille, s'est intéressée plus particulièrement au rôle des exosomes cancéreux dans le carcinome du nasopharynx (CNP), cancer des voies aéro-digestives supérieures[26]. Elle vient de démontrer dans un article publié en décembre 2014, que ces derniers se révèlent être de véritables « boosters » de la tumeur. Par ailleurs, elle a obtenu des premiers résultats très prometteurs, qui tendent à prouver l'efficacité d'une stratégie thérapeutique qui vise à cibler et neutraliser ces exosomes.

Le CNP est le 3ème cancer humain le plus fréquemment associé à une infection virale, après le cancer du foie et le cancer du col de l'utérus. Le carcinome du nasopharynx est un cancer des voies aéro-digestives supérieures associé dans 100% des cas à une infection par le virus d'Epstein Barr. A l'heure actuelle, les CNP sont inopérables au moment du diagnostic ; ils ne peuvent être traités que par radiothérapie éventuellement couplée à une chimiothérapie. Malheureusement, l'ensemble de ces traitements présente une efficacité limitée et des effets secondaires importants, d'où l'importance de chercher des alternatives thérapeutiques.

Les chercheurs ont donc essayé de comprendre l'incapacité de ces cellules à défendre efficacement l'organisme. C'est ainsi qu'ils ont mis en lumière le rôle « diabolique » des exosomes. En effet, ils ont montré que les cellules de CNP cultivées in vitro relâchaient des quantités importantes d'exosomes et que ceux-ci agissaient à plusieurs niveaux[26]. L'une des conséquences majeures observée, est la capacité de ces exosomes à limiter, de façon très importante, la réponse immunitaire de l'organisme, permettant ainsi au cancer et aux infections opportunistes de se développer plus rapidement.

Après avoir mis en évidence ces différents mécanismes, les scientifiques ont réussi synthétiser un candidat médicament susceptible de se fixer sur les exosomes des CNP et de les neutraliser. Cet outil thérapeutique a d'ailleurs fait l'objet d'un dépôt de brevet en juin 2014. Les tests précliniques sont actuellement en cours[26]. Néanmoins, il faudra encore confirmer l'efficacité de ce traitement par de nouveaux tests en laboratoire, avant de procéder aux premiers essais cliniques sur l'homme.

Au printemps dernier, s'est tenu à Chicago, États-Unis, le congrès annuel de la société américaine d'oncologie clinique (ASCO). Cette édition a confirmé les pistes prometteuses comme l'immunothérapie. Après les cancers métastatiques du poumon et les mélanomes, les essais dans les cancers ORL, de la vessie, du rein, de l'ovaire et d'autres encore semblent également prometteurs. Ces progrès sont venus d'un constat : pour se développer en toute impunité, les cellules tumorales apprennent à verrouiller certains points de contrôle du système immunitaire. Identifier et agir sur ces points de contrôle, appelés immunocheckpoints, permet de les débloquent. La première molécule développée pour bloquer ce frein immunitaire est un anticorps anti-CTLA4 [27].

Afin de maintenir l'homéostasie immunitaire et éviter les complications de la sur-activation immunitaire, plusieurs mécanismes de régulation négative sont mises en place. De tels mécanismes comportent des postes de contrôle du système immunitaire, qui comprennent les récepteurs CTLA-4 et PD-1, récepteurs exprimés à la surface des lymphocytes T. Les cellules tumorales sont capables de résister au système immunitaire en exprimant des ligands tels que le PD-L1 ou PD-L2, qui interagissent avec le récepteur PD-1 pour supprimer l'immunité.

La protéine PD1 (programmed cell death protein 1) et son ligand PD-L1 représentent une voie immunologique intéressante à cibler pour inverser l'immunosuppression induite par les tumeurs[27]. La liaison de PD1 inhibe en effet l'activité lytique des effecteurs du système immunitaire. Des essais chez la souris révèlent que la surexpression de PD-L1 dans des cancers de l'ovaire inhibe la dégranulation des CTL et réduit la lyse tumorale médiée par les CTL.

CTLA-4 (également connu sous le nom CD152) et PD-1 (également connu comme CD279) ont été les deux premiers points de contrôle immunitaire à être évalués dans le cadre de l'immunothérapie anti-cancéreuse. Ils diffèrent par la manière et le niveau par lesquels ils régulent négativement le système immunitaire. CTLA-4 a été le premier récepteur à être ciblé par un agent thérapeutique. Il est exprimé uniquement sur les lymphocytes T, dont il régule négativement l'activation par compétition avec la molécule CD28 de co-stimulation pour la liaison avec les ligands B7.1 (aussi connu comme CD80) et B7.2 (CD86)[28]. CTLA-4 a une plus grande affinité pour ces ligands et est également capable d'envoyer indépendamment des signaux d'inhibition aux lymphocytes T. Les modèles pré-cliniques de blocage de CTLA-4 ont montré une réponse immunitaire anti-tumorale.

Contrairement à CTLA-4, qui régule les lymphocytes T au niveau de l'activation initiale, PD-1 régule l'immunité à de multiples phases de la réponse immunitaire, y compris au niveau des lymphocytes T effecteurs dans les tissus périphériques. En plus de son activité dans l'immunothérapie du cancer, PD-1 joue un rôle dans l'allergie, l'auto-immunité, les maladies infectieuses et l'immunité de transplantation. PD-1 est fortement exprimé sur les lymphocytes infiltrant les tumeurs (TIL) dans la phase effectrice et sert à inhiber l'activité des lymphocytes T lors d'une exposition chronique à l'antigène lorsqu'il est engagé par ses ligands. Dans les tissus périphériques, des cellules tumorales et d'autres cellules du micro-environnement tumoral expriment des ligands de PD-1, censés protéger les cellules tumorales du système immunitaire.

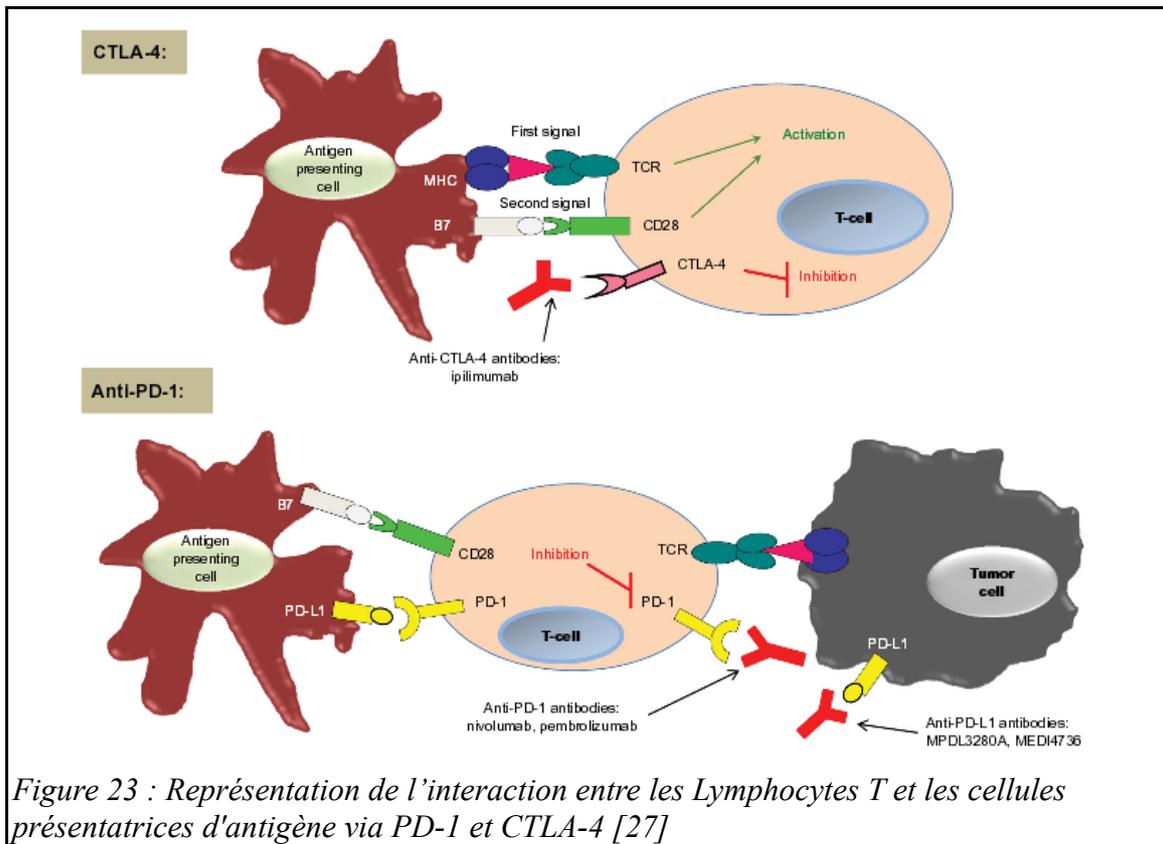


Figure 23 : Représentation de l'interaction entre les Lymphocytes T et les cellules présentatrices d'antigène via PD-1 et CTLA-4 [27]

PD-L1 (également connu sous le nom B7-H1 ou CD274) et PD-L2 (également connu sous le nom B7-DC ou CD273) sont les deux ligands de PD-1. Lorsque l'un des ligands de PD-1 vient se lier avec celui-ci, l'interaction ligand / récepteur atténue la réponse des lymphocytes T de plusieurs façons. Par exemple, ils inhibent les kinases impliquées dans l'activation des lymphocytes T par l'intermédiaire de l'activité de la phosphatase et d'autres voies de signalisation. En outre, PD-1 est exprimé sur d'autres cellules activées, y compris les lymphocytes B et les cellules NK[29]. Enfin, l'exposition chronique à un antigène peut conduire à la persistance de l'expression de PD-1. L'augmentation de l'expression de PD1 via l'exposition chronique à un antigène peut à la fois modifier la durée de l'interaction lymphocyte T/APC et peut conduire à l'anergie des lymphocytes.

PD-1 est exprimé sur les TIL dans de nombreux cancers. PD-L1 est également exprimé dans différents types de tumeurs. PD-L1 est le plus souvent exprimé dans des tumeurs solides, comme les cancers de l'ovaire, du poumon et les carcinomes rénaux, mais aussi le mélanome. PD-L2 a été rapporté pour être surexprimé dans différents types de lymphomes.

Des données pré-cliniques ont montré que l'expression délibérée de PD-L1 sur des cellules tumorales de souris inhibe la réponse anti-tumorale des lymphocytes T[29]. Pourtant, l'analyse par immunohistochimie (IHC) ou cytométrie de flux a montré que les niveaux d'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales est variable et les raisons de son hétérogénéité sont multifactorielles. Les mécanismes qui régulent l'expression de PD-L1 sur la cellule tumorale comprennent la « résistance immunitaire innée » et des « mécanismes adaptatifs de résistance immunitaire ». La « résistance immunitaire innée » peut être liée à des voies de signalisation oncogène inhérentes à la cellule tumorale. Ces mécanismes ne dépendent pas de signaux inflammatoires du micro-environnement tumoral. Les « mécanismes adaptatifs de résistance immunitaire » sont mis en place en réponse à l'activité immunitaire à l'intérieur du micro-environnement de la tumeur, ce qui conduit à une expression non uniforme de PD-L1. Les signaux pro-inflammatoires (tels que les interférons) produits par une réponse immunitaire anti-tumorale dans le micro-environnement de la tumeur peuvent conduire à une augmentation de l'expression de PD-L1, qui à son tour protège les cellules tumorales en inhibant alors la même réponse antitumorale.

L'Ipilimumab (Yervoy®), un anticorps monoclonal anti-CTLA-4[29], a été le premier agent thérapeutique à montrer des bénéfices en matière de survie chez des patients atteints de mélanome métastatique ce qui lui a valu l'approbation de la FDA en 2011.

Des essais portant sur l'ipilimumab ont montré un taux de réponse modeste de 10 à 15%, au détriment d'effets indésirables tels que des dermatites[30]. Cependant, deux essais de phase III ont montré une amélioration de la survie globale[31]. La survie moyenne des patients traités par ipilimumab par rapport au groupe traité par un vaccin anti-tumoral gp100 était de 10,9 mois versus 6,4 mois, et celle des patients traités par ipilimumab en association avec une chimiothérapie à base de dacarbazine était de 11,2 mois par rapport à 9,1 mois pour les patients traités par dacarbazine seule. La réponse obtenue chez les patients est le plus souvent durable, 1,5 à 2 ans, et 18% des patients traités par l'ipilimumab ont survécu au-delà de deux années, voir plusieurs années même. Parfois, les réponses peuvent se faire attendre jusqu'à six mois. En outre, la charge tumorale peut sembler augmenter sur l'imagerie initiale mais régresser par la suite.

Le bénéfice thérapeutique obtenu avec l'inhibition de CTLA-4 conduit à la recherche d'autres inhibiteurs immunitaires potentiels, inhibiteurs qui seraient plus spécifiques, tout aussi efficace, et moins toxiques. Étant donné que les PD-1 et PD-L1 sont souvent considérés comme des modulateurs immunitaires plus distaux, les inhibiteurs de PD-1 et PD-L1 ont été identifiés comme potentiellement capables de remplir ces besoins. Des agents anti-PD-1 ou PD-L1 sont actuellement en essais cliniques[27], avec des résultats prometteurs, y compris des taux élevés, objectifs et durables de réponse (ORR) et un profil d'effets secondaires favorable.

Therapeutic agent	Target	Disease type
Nivolumab (BMS-936558; MDX-1106; Bristol-Myers Squibb)	PD-1	Solid tumors, melanoma, NSCLC, RCC, ovarian
Pembrolizumab ^b (MK3475; formerly lambrolizumab; Merck, Keytruda [®])	PD-1	Melanoma ^b , NSCLC, head and neck
Pidilizumab (CT-011)	PD-1	Hematologic malignancies
AMP-224 (Amplimmune/GSK)	PD-1	Solid tumors
MDX-1105 (BMS936559)	PD-L1	Solid tumors
MPDL3280A (Genentech)	PD-L1	Solid tumors, melanoma, NSCLC, bladder
MEDI4736 (MedImmune)	PD-L1	Solid tumors, melanoma, head and neck, gastric
MSB0010718C (EMD Serono)	PD-L1	Solid tumors

Notes: ^aAs of 8 September 2014. List is not exhaustive due to the rapidly changing clinical trial landscape; ^bpembrolizumab gained FDA approval for patients with advanced or unresectable melanoma on 4 September 2014.

Abbreviations: FDA, US Food and Drug Administration; NSCLC, non-small cell lung cancer; PD, programmed cell death; RCC, renal cell carcinoma.

Figure 24 : Agents anti-PD1 et PD-L1 à l'essai [27]

Bien que les thérapies anti-PD1 et PD-L1 soient actuellement l'objet de nombreuses recherches sur différents types de tumeurs solides, c'est dans le mélanome métastatique qu'elles ont été le plus étudiées. Les anticorps dirigés contre PD-1 comprennent le nivolumab (Opdivo), le pembrolizumab (également connu sous le nom de MK-3475, anciennement lambrolizumab), et le pidilizumab (CT-011). Parmi ceux-ci, le nivolumab et le pembrolizumab ont été le plus étudié chez les patients atteints de tumeurs solides[32].

Le premier anticorps à cibler PD1 dans des essais cliniques était le MDX-1105. Les anticorps anti-PD1 actuellement en développement comprennent MPDL3280A (Genentech), MEDI14736 (MedImmune) et MSB0010718C (EMDSerono). Dernièrement, de nouvelles approches comme l'AMP-224 (Amplimmune), une cible de PD1, sont également à l'étude[27].

Le premier essai de phase I sur l'Homme avec le nivolumab a été conduit chez des patients atteints de tumeurs solides résistantes[33]. Une réponse complète et durable a été observée chez les patients atteints de tumeurs colorectales. Deux réponses partielles ont également été observées, l'une chez des patients atteints de mélanome, l'autre chez des patients atteints de carcinome rénal.

Un essai ultérieur de phase I a été mené pour tester l'innocuité et l'activité du nivolumab sur 296 patients atteints de mélanome à un stade avancé (n=104), de cancer du poumon non à petite cellule (n=122), de tumeur prostatique résistante aux traitements hormonaux (n=17), de cancer rénal (n=34) ou de cancer colorectal (n=19)[34]. Les résultats de cette étude montrent une réponse objective dans le mélanome (28%), dans le carcinome rénal (27%) et dans le cancer du poumon (18%). Une réponse durable a été observée chez 65% des patients sur plus d'un an. Chez les patients atteints de mélanome à un stade avancé, une réponse durable de plus d'un an a été observée dans 72% des cas pour les malades recevant le nivolumab pendant plus d'un an. Une analyse de suivi de cet essai chez les patients atteints de mélanome a été marquée par une réponse objective et durable de 31%, une durée médiane de réponse de 2 ans, et une médiane de survie de 16,8 mois pour toutes les cohortes de dose (avec une survie à 1 et 2 ans de 62% et 43% respectivement) et 20,3 mois à la dose de 3 mg / kg.

Les événements indésirables liés au traitement les plus fréquents comprenaient fatigue, diarrhée, prurit, éruption cutanée, nausées et perte d'appétit. Des événements indésirables de grade 3 et 4 liés au traitement ont été observés chez 14% des patients. Des effets indésirables graves liés au traitement ont été observés chez 11% des patients et incluaient notamment: pneumopathie (3%), colite, hépatite et thyroïdite.

Récemment, les résultats d'un essai de phase I sur un anticorps anti-PD1, le nivolumab[33], testé sur des patientes atteintes de cancer de l'ovaire résistant à la chimiothérapie ont été présentés. Sur les quinze patientes traitées, 20% ont montré des réponses partielles, et 26% ont présenté une stabilisation de la pathologie.

Un essai de phase I cherchant à étudier l'innocuité et l'activité du pembrolizumab chez des patients atteints de mélanome à la fois pré-traités par chimiothérapie et naïfs a été mené[35]. Le pembrolizumab est un anticorps monoclonal hautement sélectif qui bloque l'interaction entre PD-L1, récepteur présent à la surface des lymphocytes T et ses ligands (PD-L1, L2). Au total, 135 patients ont été traités et la réponse objective moyenne obtenue était de 38%, avec un pic à 52% pour la cohorte recevant une dose de 10mg/kg. Comme avec le nivolumab, la réponse était durable (moyenne de 11 mois), et 81% des patients sont toujours en cours de traitement.

Dans cette étude, 79% des patients ont rapporté des effets indésirables liés au traitement (le plus souvent bénins) et 13 % des patients ont rapporté des événements indésirables de grade 3 et 4 comme hypothyroïdie, diarrhées, perte d'appétit, insuffisance rénale, rash et prurit.

Une étude de phase Ib sur le pembrolizumab (anticorps anti-PD-L1) actuellement menée sur des patientes atteintes d'un cancer avancé de l'ovaire exprimant PD-L1 montre des résultats prometteurs[36]. En effet, on observe une réduction tumorale chez 23% patientes lourdement pré-traitées par chimiothérapie (deux à quatre lignes).

Un essai de phase I a évalué l'innocuité et la pharmacocinétique de pidilizumab (CT-011) chez 17 patients atteints de leucémie myéloïde aiguë, de leucémie lymphoïde chronique, de lymphome non hodgkinien, de lymphome de Hodgkin et de myélome multiple qui avaient progressé malgré une chimiothérapie ou une transplantation de cellules souches[37]. Cette étude a montré que pidilizumab était sûr, bien toléré, et un bénéfice clinique a été démontré chez 33% des patients.

Par la suite, pidilizumab a été étudié dans deux essais de phase II chez des patients atteints de tumeurs malignes hématologiques [33]. Le premier était un essai international de phase II qui évaluait pidilizumab chez des patients ayant subi une transplantation de cellules souches pour lymphome B diffus[33]. Un total de 66 patients a été traité. Chez 35 patients qui avaient une maladie mesurable après transplantation et reçus pidilizumab, le taux de réponse était de 51%. La moyenne de survie était de 0,72 à 16 mois après le premier traitement. Une neutropénie (19%) et une thrombocytopenie (8%) étaient les effets indésirables les plus fréquents; 4% des patients ont présenté un événement indésirable grave lié au traitement.

La deuxième étude de phase II a évalué l'innocuité et l'activité de pidilizumab en combinaison avec rituximab chez des patients atteints d'un lymphome folliculaire en rechute[33]. 32 patients ont été recrutés, et la médiane de suivi était de 15,4 mois. Le critère d'évaluation primaire de l'étude était la réponse objective, pour laquelle 29 patients étaient évaluable. Une réponse objective a été observée chez 66% des patients. La combinaison de pidilizumab et rituximab a été bien tolérée, sans effets indésirables liés au système immunitaire ou effets de grade 3 ou 4 liés au traitement.

Une étude multicentrique de phase I portant sur l'anticorps anti-PD-L1 MDX-1105 a été menée chez des patients atteints de tumeurs solides à un stade avancé[38] : mélanome (n=55), tumeur pulmonaire non à petites cellules (n=75), cancer colorectal (n=18), carcinome rénal (n=17), cancer de l'ovaire (n=17), cancer du pancréas (n=17), tumeur de l'estomac (n=7) et cancer du sein (n=4). Parmi ces différentes pathologies, une réponse objective a été observée chez 17% des mélanomes, 12% des carcinomes rénaux, 10% des tumeurs pulmonaires, et 5% des patientes atteintes de cancer de l'ovaire. Chez les patients ayant au moins un an de suivi, 50% ont montré une réponse durable sur un an. Les événements indésirables les plus fréquents liés au traitement étaient la diarrhée, arthralgie, fatigue, éruptions cutanées, nausées, prurit, et céphalées, dont une majorité étaient de bas grade. Bien que le développement clinique du MDX-1105 en monothérapie soit arrêté, cette expérience clinique était la première preuve publiée sur les avantages potentiels de l'inhibition de PD-L1.

Pour accroître le nombre de patients qui bénéficient de l'immunothérapie avec des agents anti-PD-1/PD-L1, des associations avec d'autres immunothérapies et traitements anticancéreux standards ont été testées. La combinaison de nivolumab et ipilimumab a été étudiée dans un essai de phase I [39]. L'administration simultanée des deux agents a montré un profil d'effets secondaires gérables et a abouti à une réponse objective de 40% pour toutes les cohortes de niveau de dose, avec une durée de réponse allant de 6 à 72 semaines. L'association de plusieurs agents a montré une plus grande toxicité, des effets indésirables liés au système immunitaire ont été observés chez 53% des patients, mais beaucoup de ces effets étaient asymptomatiques, de pertinence clinique incertaine, comme des valeurs de lipase élevées dans le sang sans symptômes associées à une pancréatite.

Chapitre IV : Vaccination Thérapeutique

Alors que les vaccins prophylactiques sont généralement administrés à des individus en bonne santé, les vaccins thérapeutiques sont administrés à des patients atteints de tumeurs dans le but d'éradiquer les cellules cancéreuses en renforçant la réponse immunitaire des patients. Les différents effecteurs immunitaires mobilisés par la vaccination thérapeutique attaquent et détruisent spécifiquement les cellules cancéreuses et préservent les cellules saines. Ainsi, les vaccins thérapeutiques anticancéreux peuvent être utilisés, en principe, pour inhiber la croissance de tumeurs et/ou faire régresser des cancers réfractaires aux traitements conventionnels comme la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie.

En 1891, le Docteur William Coley a réalisé la première tentative de stimulation du système immunitaire en pratiquant des injections intratumorales chez un patient atteint de cancer de souches inactivées de *Streptococcus pyrogenes* et de *Serratia marcescens* (toxine de Coley). L'idée venait de l'observation de rémissions spontanées de sarcomes chez des individus atteints d'érysipèle. Malgré la bonne réponse des patients, son travail fut perçu avec scepticisme par la communauté scientifique. Aujourd'hui, l'immunologie est un domaine médical beaucoup mieux connu, et la science moderne a prouvé que les théories du Dr. Coley étaient exactes. En effet, le bacille Calmette-Guérin (BCG) est un bon exemple de toxine de Coley, il est d'ailleurs toujours utilisé pour traiter par voie intravésicale certains cancers de la vessie.

Malgré les efforts considérables pour développer des vaccins anti-cancer, la traduction clinique de vaccins contre le cancer dans des thérapies efficaces est difficile. Toutefois, de récents travaux sur l'immunologie des cancers ont obtenu la preuve clinique du concept de vaccin thérapeutique : le Sipuleucel-T, un vaccin basé sur l'utilisation de cellules immunitaires, a permis une augmentation de la durée de vie moyenne de patients atteints de cancers de la prostate réfractaires aux traitements hormonaux. Cela a conduit à l'approbation par la FDA de sa mise sur la marché américain en 2010 sous le nom de Provenge®. A l'heure actuelle, il n'est toujours pas commercialisé en France.

Beaucoup de stratégies basées sur la vaccination thérapeutique sont en cours de développement ou en cours d'évaluation dans des essais cliniques. Basé sur leurs contenus, on peut les classer en différentes catégories : les vaccins cellulaires (cellules tumorales ou immunes), les vaccins peptidiques, ainsi que les vaccins moléculaires (ADN, ARN ou viral).

I – Les vaccins à base de cellules tumorales

I – A. Cellules Autologues

Les vaccins à base de cellules tumorales autologues préparés à partir de cellules cancéreuses de patients représentent l'un des premiers types de vaccins thérapeutiques testés. Ces cellules tumorales sont irradiées, combinées avec un adjuvant qui stimule le système immunitaire et administrées à l'individu dont les cellules tumorales ont été isolées. Les vaccins à base de cellules tumorales autologues ont été testés dans de nombreux cancers comme le cancer du poumon, le cancer colorectal, le mélanome, le cancer du rein ainsi que le cancer de la prostate. L'un des avantages majeurs de ces vaccins est leur capacité à présenter l'intégralité du spectre des antigènes de la tumeur au système immunitaire du patient. Cependant, la préparation de ces vaccins requière suffisamment d'échantillons de la tumeur ce qui limite cette technologie à certains types de cancers.

Les cellules tumorales autologues peuvent être modifiées pour leur conférer un potentiel immunostimulant plus important. En effet, des cellules tumorales autologues infectées par le virus de la maladie de Newcastle (paramyxovirus de type 1) ont montré une capacité à augmenter leur immunité anti-tumorale dans de nombreux modèles animaux, comme dans le lymphome et le mélanome. Des essais cliniques ont montré que ces cellules tumorales modifiées étaient « saines » et avaient un effet positif sur la mémoire immunitaire anti-tumorale des patients atteints de cancers. L'immunisation avec des cellules tumorales conçues pour exprimer l'IL-12, une cytokine clé de l'immunité, entraîne également la suppression de tumeurs solides chez la souris accompagnée d'une production élevée d'IFN γ et de l'activation des lymphocytes T cytotoxiques ainsi que des cellules NK.

Un vaccin à base de cellules autologues transfectées par gène GM-CSF (GVAX) a été étudié dans plusieurs essais cliniques[40]. Les études ont montré que le GVAX permet le recrutement de cellules dendritiques pour la présentation d'antigènes tumoraux et de lymphocytes CD8 $^+$. Le GVAX stimule également la maturation des cellules dendritiques. L'immunisation par GVAX, lorsqu'elle est combinée avec le blocus de l'antigène 4 associé aux CTL (CTLA-4), un important inhibiteur de la réponse immunitaire, favorise le déclin du mélanome murin en modifiant la balance lymphocytes T effecteurs/régulateurs. Une meilleure efficacité anti-tumorale était obtenue lorsque les cellules, conçues pour exprimer le ligand Flt3 (FVAX), étaient associées à l'inhibition du CTLA-4 dans le traitement de l'adénocarcinome prostatique murin. En plus de CTLA-4, l'interaction du récepteur PD-1 (programmed death 1) avec ses ligands PD-L1/2 ou B7-1 inhibe aussi l'activation des cellules T et la production de cytokines. La combinaison de l'inhibition de PD-1 et CTLA-4 en synergie avec FVAX, mais non GVAX, dans le contrôle de la croissance du mélanome B16 murin, suggère que l'inhibition des voies de costimulation favorise l'expansion des

cellules T spécifiques de la tumeur et le maintien de leurs fonctions effectrices, résultant du changement du micro-environnement tumoral d'un état immunosuppresseur à un état inflammatoire/immunostimulateur. En plus de cibler les voies négatives d'immunorégulation, GVAX a été formulé à base de lipopolysaccharide (LPS), un agoniste du récepteur TLR4, pour le traitement de plusieurs tumeurs murines. L'administration intratumorale GVAX-LPS absorbé augmente nettement la réponse antitumorale par rapport à GVAX seul. Cela prouve un effet antitumoral corrélé à l'augmentation de l'infiltration de la tumeur par des cellules dendritiques activées aussi bien que des cellules CD8- et CD4+.

Depuis 2007, le séquençage ADN de différents carcinomes a prouvé l'extrême diversité génétique ou hétérogénéité des tumeurs. Ainsi, le concept d'homogénéité des tumeurs était une hypothèse erronée. Le cancer est une maladie génétique; le séquençage génétique de cellules cancéreuses ces dernières années, basé sur des technologies de seconde génération, montre clairement qu'il y a eu une sous-estimation de l'hétérogénéité des tumeurs et de ses conséquences sur le développement de vaccins « anti-cancer ». Il est donc entendu que l'on ne peut traiter une pathologie hétérogène avec un traitement homogène. Pour aller plus loin dans ce concept d'hétérogénéité, une équipe de chercheurs américains a analysé cette question dans le cancer du sein et dans le cancer colorectal[41]. Ils ont rapporté qu'il y a 80 mutations de l'ADN dans un cancer type conduisant à autant de protéines altérées, ou antigènes spécifiques de la tumeur. Bien que le nombre de gènes mutants soit similaire dans les cancers du sein et colorectaux, ces gènes sont sensiblement différents tout comme le type de mutation. En conséquence, une forte réponse immune anticancéreuse ne peut être obtenue avec un vaccin à base de cellules allogéniques. Les vaccins antitumoraux à base de cellules autologues sont donc une meilleure approche immunologique pour le développement de vaccin anti-cancer.

La spécialité OncoVax® (Vaccinogen, Maryland, États-Unis) est le premier vaccin contre le cancer du côlon utilisé pour prévenir les rechutes après résection chirurgicale d'une tumeur primaire[42]. Il utilise des cellules tumorales vivantes des patients atteints de cancer du côlon, métaboliquement actives, stériles et non-tumorigènes pour mobiliser le système immunitaire du patient pour prévenir la récurrence du cancer après chirurgie. Tenant compte de l'hétérogénéité des cancers, OncoVax® utilise la propre tumeur des patients pour créer une forte réponse immunitaire contre la diversité et la singularité des cellules cancéreuses du patient.

Selon le protocole OncoVax®, les deux premières injections sont constituées de cellules tumorales irradiées mélangées avec des mycobactéries de la souche de Bacillus Calmette Guérin (BCG). La troisième et la quatrième immunisation sont constituées de cellules tumorales irradiées seules. Toutes les vaccinations sont intradermiques, le site le plus fonctionnel pour les vaccinations. La souche du BCG est, en plus d'être un vaccin pour la prévention de la tuberculose, également un médicament approuvé pour le traitement du carcinome intravésical. Pour stimuler la réponse immunitaire, Oncovax® inclut des souches de BCG dans les deux premières injections. Le BCG est une bactérie vivante, mais faiblement pathogène. Néanmoins, il génère une inflammation locale, ce qui induit une forte réponse immunitaire par de multiples voies de stimulation. En fait, 24 h après l'injection de BCG chez l'homme, on note une mobilisation massive des cellules immunitaires dans le

sang, ce qui conduit à l'ancrage de ces cellules au site de vaccination intradermique. Ces cellules immunitaires sont activées au niveau du site de vaccination contre les antigènes disponibles.

Des patients aux stades II et III de cancers du côlon ont été sélectionnés [42]: 128 ont reçu le vaccin OncoVax® et 126 constituèrent le groupe témoin. Ces derniers ne reçurent aucun traitement après résection chirurgicale mais furent néanmoins suivis. Pour les sujets randomisés pour OncoVax® (n = 128), 28 à 35 jours après la chirurgie les patients ont reçu les trois inoculations, la première avec des cellules tumorales mélangées avec le BCG et une semaine plus tard, un second traitement identique. La troisième vaccination, une semaine après, était à base de cellules tumorales autologues, stériles, irradiées seules. Une quatrième dose, un traitement de rappel, a été administrée six mois après la résection chirurgicale. Le suivi médian dans cette étude était à l'origine de 5,3 ans puis 5,8 ans. La randomisation dans l'étude a été effectuée en fonction de la classification TNM (tumeur, adénopathie, métastase), l'emplacement de la tumeur ainsi que l'établissement de la tumeur.

Dans le groupe OncoVax®, 102 patients sur 128 ont reçu les quatre vaccinations. Pour déterminer le degré de réactivité DTH (delayed type hypersensitivity ou hypersensibilité retardée), les indurations ont été mesurées aux sites d'injections 48 h après les troisième et quatrième immunisations. Les patients montrant une induration de minimum 5 mm de diamètre ont été considérés comme ayant une immunité cellulaire efficace. 97% des patients après la quatrième inoculation ont obtenu une réponse considérée comme efficace [42].

Quarante-six patients au stade II de la classification TNM (29 contrôles, 17 traitements OncoVax®) ont subi une progression de la maladie ou sont décédés pendant l'étude. Malgré cela, les estimations de Kaplan-Meier des taux de cancer du côlon ont montré une amélioration statistiquement significative de la survie sans récurrence chez les patients de stade II traités (Figure 25). Les pourcentages après cinq années de suivi étaient respectivement de 21,3% et 37,7% pour les groupes traitement et contrôle. La différence de 16,4% représente une réduction du risque relatif de 41,4% de progression de la maladie à cinq ans ($p = 0,008$). Trente-cinq patients au stade II de la maladie (21 contrôles, 14 traitements OncoVax®) sont décédés pendant l'étude. La survie globale a montré une amélioration statistiquement significative des patients traités par OncoVax® (17,5%) par rapport aux patients du groupe de contrôle (27,3%) (Figure 26). La différence favorable de 9,8% représente une réduction du risque relatif de 33,3% à cinq ans ($p = 0,014$) [42].

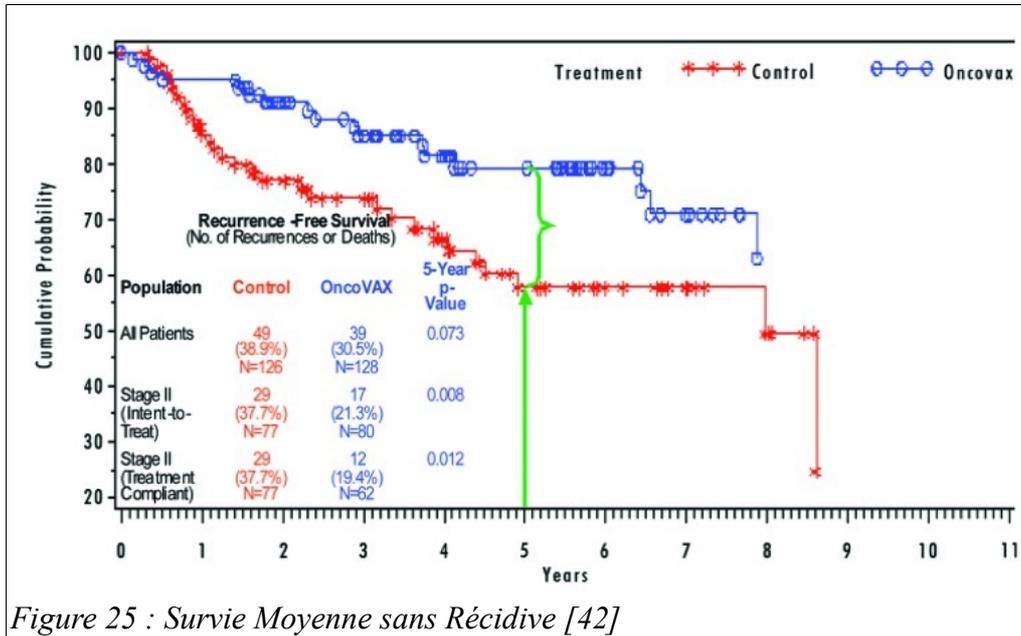


Figure 25 : Survie Moyenne sans Récidive [42]

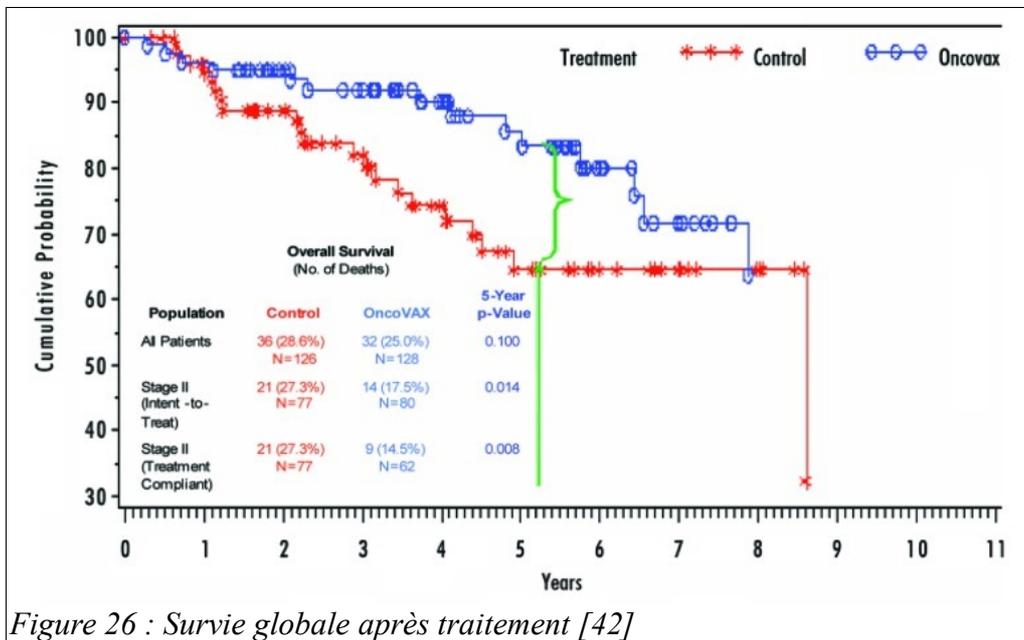


Figure 26 : Survie globale après traitement [42]

On notera un pourcentage plus élevé de patients ayant eu un effet indésirable grave non fatal dans le groupe contrôle que dans le groupe OncoVax®. Trente-trois patients dans le groupe OncoVax® (25,8 %) et 46 patients dans le groupe de contrôle (36,5 %) ont connu au moins un événement indésirable. Un événement indésirable grave a été considéré comme lié au traitement avec OncoVax®. Un patient a été hospitalisé pour le traitement d'un syndrome pseudo-grippal, l'événement a été résolu neuf jours plus tard. En outre, le traitement avec OncoVax® a été arrêté chez une femme de 71 ans qui a développé une ulcération de 21 x 32 mm après la seconde inoculation (à partir de laquelle le BCG avait été omis en raison d'événements indésirables après la première inoculation). La zone d'ulcération est devenue nécrotique et a nécessité une excision chirurgicale.

Dans une analyse *a posteriori*, les résultats de tous les sujets qui ont reçu quatre inoculations ont été évalués. Ainsi, la cohorte de patients traités par OncoVax® a obtenu un résultat cliniquement significatif et statistiquement significatif en termes d'intervalle sans récurrence et de survie sans récurrence. De plus, les patients atteints de la maladie au stade II ont obtenu une différence statistiquement significative en terme de survie globale ($p = 0,046$), 85,5 % dans le groupe traité par OncoVax® contre 72,7 % dans le groupe témoin[42].

I – B. Cellules Allogéniques

Les vaccins à base de cellules tumorales allogéniques entières, qui contiennent typiquement deux ou trois lignées cellulaires de tumeurs humaines établies, ont un intérêt car possèdent moins de limites que les vaccins à base de cellules tumorales autologues. Ils comprennent des sources infinies d'antigènes tumoraux, une production standardisée et donc une possibilité de vaccin à grande échelle, une analyse fiable des résultats cliniques, ainsi qu'un bon rapport coût-efficacité.

Le Canvaxin® est un vaccin à base de cellules entières allogéniques constitué de trois lignées de mélanome combinées à un adjuvant, le BCG. Dans un essai de phase II, la médiane de survie ainsi que le taux de survie à 5 ans était significativement plus élevé chez les patients atteints de mélanome de stade III recevant Canvaxin® comme traitement adjuvant postopératoire par rapport au groupe témoin (56,4 mois et 49 % par rapport à 31,9 mois et 37 % ; $p < 0,001$)[43]. Dans un autre essai de phase II chez des patients atteints de mélanome de stade IV, le traitement par Canvaxin® abouti à un taux de 39 % de survie à 5 ans, 20% chez le groupe témoin[44]. Cependant, deux essais de phase III randomisés multi-institutionnels chez des patients atteints de mélanome de stade III et IV ont échoué à déterminer l'efficacité du vaccin[44], et par conséquent, ces essais ont été abandonnés.

L'efficacité clinique du vaccin GVAX allogénique a été évaluée pour le traitement du cancer de la prostate récidivant, le cancer du sein et le cancer du pancréas. Bien que les résultats des essais de phase II dans le cancer de la prostate aient été encourageants, la phase III des essais cliniques conçus pour tester GVAX seul versus GVAX en association avec les chimiothérapies pour le traitement du cancer de la prostate métastatique ont échoué à atteindre un bénéfice de survie satisfaisant et ont été abandonnés[45]. Malgré ces résultats décevants, d'autres stratégies de combinaison impliquant le vaccin contre le cancer de la prostate GVAX et anti- CTLA-4 (ipilimumab), un agent immunomodulateur récemment approuvé par la FDA pour le traitement du mélanome métastatique, sont toujours poursuivis[45].

Le belagenpumatucel-L (Lucanix®) est un vaccin à base de cellules tumorales allogéniques génétiquement modifiées qui inhibe la transformation du facteur de croissance TGF- β 2[46]. Il a été développé à partir de cinq lignées de cellules allogéniques de cancer du poumon (NSCLC, non-small cell lung cancer) transfectées pour exprimer une séquence de TGF- β 2 antisens pour inhiber l'expression de TGF- β 2. Le TGF- β 2 est une isoforme de la famille du TGF- β et se trouve être immunosuppresseur, présentant des effets antagonistes sur les cellules tueuses naturelles, les cellules tueuses activées et les cellules dendritiques. L'expression de TGF- β 2 a été corrélée à un mauvais pronostic dans le NSCLC.

Un essai clinique de phase II randomisé sur 75 patients atteints de NSCLC (stades II-IV) a été achevé[46]. Les patients ont été répartis en trois groupes en fonction des doses administrées ($1,25 \cdot 10^7$, $2,5 \cdot 10^7$, ou $5 \cdot 10^7$ cellules / injection) et ont été traités tous les mois ou une fois tous les deux mois. Seuls les événements indésirables mineurs ont été notés avec un seul événement de grade 3 attribué au vaccin. Les résultats ont montré qu'il y avait un taux de réponse partielle de 15 % chez les patients à un stade avancé. La probabilité estimée de survie à un ou deux ans était de 39% et 20% respectivement pour les patients recevant la dose faible du vaccin ($1,25 \cdot 10^7$ cellules / injection). Cela se compare à 68 % et 52% pour les doses plus élevées ($2,5 \cdot 10^7$ à $5 \cdot 10^7$ cellules / injection). La durée moyenne de survie estimée pour les patients de la catégorie à faible dose était de 252 jours, comparativement à 581 jours pour les patients dans les doses plus élevées.

Basé sur ces résultats, un essai clinique randomisé de phase III a été lancé pour examiner les avantages globaux de survie pour les patients atteints de cancers aux stades T3N2 - IIIA, IIIB et IV, qui n'ont pas progressé après une chimiothérapie de première ligne et ont été traités avec belagenpumatucel -L ou un placebo (essai STOP) [47]. L' étude a enrôlé 532 patients, les patients recevant des traitements entre 4 et 17,4 semaines après la fin de la chimiothérapie de première ligne. Les patients ont été randomisés en outre sur l'histologie de la tumeur avec 57 % d'adénocarcinomes, 27 % de tumeurs squameuses, et 6 % carcinomes à grandes cellules . Les patients ont reçu le belagenpumatucel - L ou un placebo pendant 18 mois à raison de deux injections intradermiques trimestrielles jusqu'à progression de la maladie ou le retrait de l'essai. La survie globale médiane des patients traités par belagenpumatucel-L était de 20,3 mois contre 17,8 mois pour le groupe placebo ($p = 0,594$).

Les patients qui ont été traités dans les 12 semaines après la fin de la chimiothérapie ont montré une amélioration de la survie globale avec une médiane de survie de 20,7 mois avec le belagenpumatucel-L, comparativement à 13,4 mois avec le placebo ($p = 0,083$). Les patients qui avaient été préalablement traités avec des radiations avaient une médiane de survie globale de 40,1 mois (belagenpumatucel-L), comparativement à 10,3 mois pour le groupe placebo, ($p = 0,014$). Les patients atteints de cancer de stade IIIB / IV non - adénocarcinome randomisés dans les 12 semaines de la fin de la chimiothérapie ($n = 99$) avaient médiane de survie globale de 19,9 mois (belagenpumatucel - L), comparativement à 12,3 mois pour le placebo, ($p = 0,036$). La nette amélioration de la survie obtenue en sous-groupes spécifiques de patients identifiés est une étape encourageante pour les vaccins contre le cancer du poumon et d'autres essais sont prévus.

II – Les vaccins à base de cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont les cellules présentatrices d'antigènes professionnelles les plus importantes. Elles agissent comme des sentinelles des tissus périphériques où elles absorbent et présentent les agents pathogènes ou peptides antigéniques aux lymphocytes T naïfs via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). L'importance des cellules dendritiques dans l'immunité innée et adaptative est bien établie. En effet, de nombreuses stratégies d'immunothérapie du cancer ciblent les cellules dendritiques directement ou indirectement pour l'induction de réponses immunitaires spécifiques. Des études ont montré que les différents sous-ensembles de DCs interagissent avec différentes populations de lymphocytes T et régulent différentes réponses immunitaires *in vivo*. Une étude sur des animaux a montré que les cellules dendritiques CD8 + CD205 + présentent des antigènes via le CMH de classe I et de classe II, alors que les cellules dendritiques CD8-33D1 + utilisent la voie de présentation du CMH de classe II uniquement.

En outre, le ciblage des antigènes présentés par les cellules dendritiques ne se traduit pas toujours dans l'activation immunitaire, car l'engagement de certains récepteurs sur les DCs peut induire la suppression immunitaire. Il semble que les signaux de maturation des DCs soient essentiels pour éviter l'induction de la tolérance des lymphocytes T ou l'augmentation de l'immunité anti-tumorale. Des études sur la biologie des DCs démontrent que trois signaux sont généralement nécessaires pour l'activation fonctionnelle des cellules dendritiques, y compris la juste présentation du complexe CMH/peptide aux lymphocytes T, la régulation positive de molécules de co-stimulation tels que CD40, CD80, et CD86, et la production de cytokines capables de polariser la voie de différenciation des lymphocytes T vers la voie Th1.

Des études menées sur des cultures *ex vivo* de cellules dendritiques de souris obtenues à partir de précurseurs de la moelle osseuse fournissent la base du développement de vaccins à base de DCs[46]. D'une manière similaire, les DCs humaines peuvent être produites par culture de progéniteurs hématopoïétiques CD34 + ou de monocytes dérivés du sang périphérique. La préparation de vaccins peut être obtenue en associant des antigènes tumoraux à des cellules dendritiques autologues de patients qui sont simultanément traités avec des adjuvants. Les cellules sont ensuite readministrées aux patients afin d'induire une immunité anti-tumorale. Les antigènes utilisés à cette fin peuvent être des protéines ou des peptides tumoraux, des cellules tumorales entières, de l'ADN ou ARN viral, ou encore issus de la fusion de cellules tumorales et de cellules dendritiques.

L'un des premiers essais testant l'immunogénicité des DCs a été réalisé dans le cancer métastatique de la prostate, dans lequel les patients ont reçu des cellules dendritiques autologues présentant des antigènes dérivés de l'antigène de membrane spécifique de la prostate (PSMA)[48]. Des réponses cellulaires spécifiques de l'antigène et une réduction des niveaux de PSA ont été observés chez certains patients, favorisant l'utilisation potentielle de cette thérapie vaccinale. D'autres vaccins à base de cellules dendritiques ont été testés dans des essais cliniques pour le traitement du cancer de la prostate, dans le mélanome, ainsi que dans le carcinome rénal. Cependant, ce type de vaccin autologue nécessite l'isolement de cellules mononucléaires du sang périphérique provenant du patient et la mise en culture de ces cellules, ce qui limite ainsi le nombre de vaccinations.

Le Sipuleucel -T (Provenge®) a été approuvé par la FDA américaine en 2010 pour le traitement du cancer de la prostate métastatique résistant aux traitements hormonaux. Ce vaccin autologue se compose principalement de cellules présentatrices d'antigène incubées avec un antigène de la prostate, la PAP (phosphatase acide prostatique) fusionnée à GM-CSF. Plus précisément, les cellules présentatrices d'antigène (APC) et d'autres cellules mononuclées du sang du patient sont recueillies par leucophérèse, puis ces cellules sont exposées à une protéine de fusion recombinante qui fonctionne comme un antigène associé au cancer de la prostate[48]. Cet antigène recombinant se compose de deux éléments clé. Le premier est la phosphatase acide prostatique (PAP). La PAP est une enzyme exprimée dans plus de 95% des adénocarcinomes de la prostate et est hautement spécifique des tissus prostatiques. Le deuxième élément essentiel de l'antigène recombinant est l'activateur de cellule immunitaire, le facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF). Le récepteur de GM-CSF est exprimé sur les cellules présentatrices d'antigènes dérivées du sang et de la moelle osseuse. Lorsqu'il est lié à l'APC, le GM-CSF stimule la production d'autres molécules de la fonction immunitaire, y compris des cytokines et des molécules co-stimulatrices. Ces deux composants sont combinés pour former une protéine de fusion recombinante PAP-GM-CSF, connu sous le nom PA2024. Cette protéine de fusion est incubée avec les cellules du patient pendant 36 à 48 heures. Il en résulte la maturation des cellules présentatrices d'antigènes. Ce processus est effectué ex vivo pour éviter l'environnement immunosuppresseur créé par les cellules cancéreuses de la prostate du patient. Les APC matures, connues sous le nom APC8015, sont ensuite réinjectées au patient. Bien que le mécanisme d'action précis soit inconnu, le Sipuleucel-T est conçu pour induire une réponse immunitaire systémique à l'encontre des cellules cancéreuses de la prostate du patient, qui expriment PAP. Les cellules dendritiques contenant PA2024 constituent le composant actif de Sipuleucel-T.

Les essais cliniques démontrent un bénéfice en matière de survie[48]. En effet, 127 hommes atteints de cancer de la prostate ont été randomisés dans deux groupes: ils ont reçu une perfusion de Sipuleucel-T ou une perfusion de placebo à deux semaines d'intervalle jusqu'à occurrence de trois perfusions. Il n'y a pas de différences remarquables entre les deux groupes quant au délai de progression de la maladie (11,7 semaines dans le groupe vaccin contre 10 semaines dans le groupe placebo, $p=0,052$). Cependant, une analyse des données sur l'innocuité dans une période de 36 mois met en évidence un avantage statistiquement significatif et d'importance clinique en matière de survie, soit 4,5 mois de

plus chez les hommes traités par le Sipuleucel-T comparativement aux hommes sous placebo (survie médiane de 25,9 mois contre 21,4 mois, $p=0,01$). Après le suivi de trois ans, le taux de survie est de 34% dans le groupe soumis à l'immunothérapie et de 11% dans le groupe placebo. Compte tenu de son profil de toxicité favorable et de la voie d'administration gérable, le succès de Sipuleucel -T comme le premier vaccin thérapeutique ouvre de nouvelles possibilités de traitement pour le cancer de la prostate et d'autres cancers.

Malgré le succès clinique du vaccin contre le cancer de la prostate à base de cellules dendritiques, la modeste efficacité anti-tumorale de Sipuleucel-T souligne la nécessité d'améliorer et d'optimiser cette approche. Étant donné que l'activation des lymphocytes T est finement contrôlée par des molécules co-stimulatrices exprimées sur les DCs, la modification des niveaux d'activation ou de molécules inhibitrices pourrait améliorer l'efficacité des vaccins à base de cellules dendritiques. La stimulation de CD40 sur les DCs via les cellules T CD4 + activées est requise pour une activation et une réponse des lymphocytes T CD8 + efficace. La surexpression de CD40L dans des cellules dendritiques de souris via la transduction de virus ou d'électroporation d'ARNm a conduit à une expression élevée de molécules B7 et à une production accrue d'IL-12p70, les deux étant essentiels pour l'immunité anti-tumorale via la voie Th1. De même, l'expression de CD40L sur des cellules dendritiques humaines a également abouti à une activation accrue des lymphocytes T, même vis à vis d'antigènes de tumeur peu immunogènes, telle que la glycoprotéine 100 (gp100) [48].

La modulation d'autres molécules co-stimulatrices telles que CD70, GITRL, CD137L ou des facteurs pro-inflammatoires, comme l'IL-12p70, IL-2, IL-18, et CCR7 CXCL10 améliore également les fonctions des cellules dendritiques en favorisant leur maturation et leur activation, leur migration et leur capacité à stimuler les réponses Th1 et CTL spécifiques de l'antigène.

Tandis que les molécules activatrices exprimées sur les DCs sont impliquées dans une réponse de cellules pro-inflammatoires ou anti-tumorale T, certaines molécules suppressives contribuent à la tolérance immunitaire. Récemment, des études ont révélé que le récepteur scavenger SRA/CD204 représente un nouveau régulateur immunitaire. SRA/CD204 diminue l'immunogénicité des cellules dendritiques et l'immunité anti-tumorale médiée par les CTLs chez la souris[49]. La suppression de SRA/CD204 améliore les fonctions de présentation d'antigènes et la réponse immunitaire anti-tumorale consécutive impliquant l'IFN- γ et CTL. Ces résultats soutiennent le concept de ciblage de SRA / CD204 en tant que stratégie pour optimiser l'activité des vaccins actuels qui peuvent être utilisés seuls ou en combinaison avec des thérapies conventionnelles, telles que la radiothérapie.

III – Vaccins à base de protéines/peptides

III – A. Les Antigènes tumoraux en tant que cible thérapeutique

La disponibilité des échantillons des patients et la complexité de la procédure de préparation de vaccins individualisés limitent grandement la large utilisation des vaccins autologues contre le cancer, y compris les cellules tumorales entières ou DCs. Les vaccins recombinants, basés sur l'utilisation de peptides provenant d'antigènes associés à des tumeurs définies (TAA), et généralement administrés avec un adjuvant ou un modulateur immunitaire, ont clairement des avantages. MAGE- 1 est le premier gène reconnu pour coder un antigène tumoral humain reconnu par les lymphocytes T [50]. L'identification de TAA a permis la conception de vaccins thérapeutiques ciblés, et ces antigènes peuvent être classés en plusieurs catégories principales. Par exemple, les antigènes du cancer des testicules, tels que MAGE, BAGE, NY-ESO-1 et SSX-2, sont codés par des gènes qui sont normalement réduits au silence dans les tissus adultes, mais voient leur transcription réactivée dans les cellules tumorales. Les antigènes de différenciation sont d'origine tissulaire normale et retrouvés à la fois dans les tissus sains et les tumeurs, tels que le mélanome (gp100, Melan-A / Mart- 1 et la tyrosinase), le cancer de la prostate (PSA , PAP) et les carcinomes du sein (mammaglobine -A). De même, plusieurs autres antigènes tumoraux tels que le CEA, MUC1, HER2 / Neu, les gènes suppresseurs de tumeurs (p53), hTERT et certaines protéines anti- apoptotiques sont également très élevés dans les tissus tumoraux par rapport aux tissus sains. Les antigènes spécifiques de tumeurs sont souvent appelés oncogènes mutés (ras, B-raf).

Le ciblage de ces antigènes spécifiques de tumeurs impliqués dans le processus néoplasique a l'avantage de la résistance à l'immunosélection. Des essais cliniques sont en cours pour tester des vaccins qui ciblent des mutations ras retrouvées dans les cancers colorectaux et pancréatiques[51]. Cependant, l'identification de ces mutations reste difficile. Il est également difficile de cibler des mutations uniques qui se produisent dans des tumeurs individuelles.

Les vaccins à base de peptides ou de protéines sont plus rentables que les vaccins autologues ou individualisés. Cependant, ils ont aussi un inconvénient, car ils ciblent uniquement un épitope ou quelques épitopes de l'antigène associé à une tumeur. Il est généralement admis que l'induction de CTL spécifiques et des cellules auxiliaires CD4 + T spécifiques d'antigène est nécessaire pour qu'un vaccin contre le cancer soit efficace de manière optimale. Certains vaccins polypeptidiques contiennent potentiellement à la fois des épitopes reconnus par les cellules CD4 et CD8. Une autre approche pour améliorer l'immunogénicité d'un auto-antigène est de modifier la séquence peptidique de l'antigène

pour présenter des épitopes agonistes, qui augmentent la liaison du peptide à la molécule de CMH ou au récepteur des cellules T, ce qui entraîne des niveaux plus élevés de réponses des lymphocytes T.

Bien que ces vaccins soient capables d'induire une réponse des lymphocytes T spécifique de l'antigène, les résultats cliniques sont décevants. En effet, dans l'étude de phase III qui a mené à l'approbation de l'ipilimumab pour le traitement du mélanome[31], aucune différence dans la survie globale n'a été observée chez les patients atteints de mélanome de stade III ou IV entre le groupe ipilimumab et ipilimumab associé à gp100.

Cependant, des résultats encourageants ont été obtenus récemment dans un essai randomisé de phase III portant sur des patients atteints de mélanome de stade IV ou de mélanome de stade III avancé[49]. Le groupe traité avec le peptide gp100 associé à l'IL-2 a montré une amélioration statistiquement significative de la réponse clinique globale (16 % contre 6% , $p = 0,03$) ainsi que de la survie sans progression (2,2 mois vs 1,6 mois , $p = 0,008$) par rapport au groupe IL-2 seul. La médiane de survie globale était également améliorée dans le groupe gp100 associée à l'IL-2 par rapport au groupe IL-2 seul (17,8 contre 11,1 mois ; $p = 0,06$). En effet, ce fut le premier essai de phase III à démontrer un bénéfice clinique d'un vaccin peptidique dans le traitement du mélanome.

III – B. Des adjuvants Immunostimulateurs pour les vaccins à base de protéines/peptides

Étant donné que les TAA sont peu immunogènes naturellement, un adjuvant immunostimulateur est essentiel pour générer une réponse immunitaire efficace. Les sels d'aluminium (alun) ont été utilisés comme adjuvants avec un grand succès depuis près d'un siècle et ont été particulièrement efficaces dans la promotion de l'immunité humorale protectrice. Cependant, l'alun n'est pas un adjuvant optimal pour les maladies où l'immunité à médiation cellulaire est nécessaire pour une réponse efficace. La reconnaissance au cours des trois dernières décennies que l'activation de l'immunité innée est nécessaire pour conduire des réponses immunitaires adaptatives a radicalement modifié les théories sur la façon dont les adjuvants promeuvent l'immunité adaptative. La reconnaissance de fragments conservés associés aux agents pathogènes ou de motifs moléculaires associés à des pathogènes (PAMP) via des récepteurs comme les récepteurs Toll-like (TLR), entraîne la coordination de l'immunité innée et de l'immunité adaptative contre le pathogène ou contre les cellules infectées. L'activation médiée par un TLR de cellules présentatrices d'antigène est une étape cruciale dans ce processus. En effet, de nombreux vaccins établis ou expérimentaux intègrent des PAMP, non seulement pour protéger contre les maladies infectieuses, mais aussi dans le cadre de la vaccination thérapeutique contre le cancer. L'utilisation de ces molécules comme adjuvants facilite grandement la conception rationnelle de vaccins.

Ainsi, le BCG utilisé dans le traitement du cancer de la vessie s'est montré relativement efficace et a mis en évidence l'activation de TLR2 et TLR4[52]. En effet, on sait depuis les années soixante que le LPS, un ligand naturel de TLR4, possède des propriétés anticancéreuses. Le monophosphoryl lipide A (MPL) est un dérivé chimiquement modifié d'une endotoxine bactérienne qui maintient la plupart des propriétés immunostimulantes du LPS. Beaucoup d'études ont montré que MPL stimule puissamment la réponse immunitaire d'un patient contre des antigènes viraux et tumoraux. La FDA a par exemple approuvé plusieurs vaccins contenant du MPL comme le vaccin Cervarix® contenant du MPL et un sel d'aluminium en tant que vaccin prophylactique contre le papillomavirus humain, ainsi que l'imiquimod (un agoniste TLR7) pour une utilisation chez les humains contre la kératose actinique et le carcinome basocellulaire. Ces agonistes TLR ont un fort potentiel dans la promotion de l'immunogénicité de TAA faiblement immunogènes.

Le nombre de PRR connus a considérablement augmenté au cours des dernières années, beaucoup de moyens sont donc déployés pour enquêter sur le rôle des PRR dans une activité adjuvante des vaccins thérapeutiques contre le cancer. En plus de détecter des signaux associés à des pathogènes, les PRR reconnaissent également des molécules endogènes telles que les protéines de choc thermique (HSP). En tant que composants protéiques intrinsèques et hautement conservés de la cellule, ces motifs moléculaires dits DAMPS (damage-associated molecular patterns) communiquent également la nature et l'ampleur de la lésion cellulaire au système immunitaire de l'hôte. Bien que les protéines de choc thermique soient connues pour agir comme des chaperons moléculaires et participent au contrôle de la qualité des protéines intracellulaires, des études ont montré que certaines HSP sont capables d'intégrer les réponses immunitaires innées et adaptatives, et peuvent être utilisées en tant qu'agents immunostimulants pour l'immunothérapie du cancer [46].

L'immunogénicité des HSP est principalement attribuable à leur capacité à se lier à des peptides antigéniques et à transporter ces peptides vers les cellules présentatrices d'antigène. Ceci est cohérent avec la capacité bien connue des molécules chaperons pour lier les chaînes polypeptidiques en réponse à un stress physiologique. A ce jour, l'immunité anti-tumorale provoquée par les HSP, y compris les protéines de choc thermique cytosoliques Hsp70, Hsp90, HSP110, ou la Grp170 et la calréticuline, a été mise en évidence contre une variété de tumeurs de différentes origines histologiques telles que les fibrosarcomes, les carcinomes pulmonaires, les mélanomes, les cancers du côlon, les lymphomes à cellules B et les cancers de la prostate. Ainsi, la vaccination avec des complexes chaperons-peptide dérivés d'une tumeur contourne la nécessité d'identifier des épitopes de CTL à partir de cancers particuliers. Cet avantage unique étend l'utilisation de l'immunothérapie à base de chaperons pour le traitement de cancers dont les antigènes tumoraux spécifiques ne sont pas encore caractérisés.

Le premier vaccin autologue HSP, Oncophage (également connu sous le nom HSP-peptide complexe 96, HSPPC-96), a été étudié dans des essais cliniques sur divers types de tumeurs malignes, y compris le cancer colorectal métastatique, le mélanome métastatique, le carcinome rénal et le lymphome non hodgkinien[46]. Malgré les résultats positifs des essais de phase précoce, l'essai de phase III mené sur des patients atteints de mélanome de stade IV n'a pas réussi à démontrer des avantages en matière de survie. De même, aucune différence dans la survie sans récurrence entre le groupe vaccination et le groupe témoin n'a été observée dans un essai de phase III portant sur des patients atteints de carcinome rénal (bien que les patients atteints de carcinome au stade I et II semblaient tirer un bénéfice de la vaccination) [46]. Une analyse plus poussée des données a montré que les patients atteints de carcinome rénal au stade I / II avaient une survie sans récurrence d'environ 45 % supérieure par rapport au groupe de contrôle. En conséquence, le vaccin à base de gp96 (Oncophage / Vitespen) a été approuvé en 2008 par le ministère russe de la Santé pour le traitement adjuvant du carcinome rénal. Pour surmonter les difficultés techniques (échantillonnage de la tumeur, temps de préparation, etc.) associées aux approches conventionnelles de préparation des vaccins autologues HSP, une nouvelle technologie a permis de formuler des vaccins recombinants HSP. La protéine entière utilisée dans cette approche contient un grand nombre de peptides comme autant d'antigènes potentiels qui permettent au CMH de l'individu de sélectionner l'épitope approprié pour la présentation aux lymphocytes et qui augmentent donc les chances de réponse spécifique T et B. Cette approche synthétique peut servir de modèle pour développer de nombreuses cibles d'antigènes différents, que ce soit seul ou en association.

IV – Vaccins basés sur la génétique

Une autre stratégie pour délivrer des fragments d'antigène ou un antigène entier in vivo consiste à utiliser des vecteurs d'ADN viraux ou plasmidiques portant les gènes d'expression. Lors de l'administration, des cellules somatiques (kératinocytes, myocytes) ou des cellules dendritiques sont transfectées, et infiltrent le muscle ou la peau lors de la réponse inflammatoire à la vaccination, ce qui entraîne la présentation d'antigène directe. Un avantage majeur des vaccins génétiques est l'utilisation de multiples antigènes et donc l'activation de différentes voies de l'immunité.

IV – A. Les Vaccins à ADN

Les vaccins à ADN sont des plasmides bactériens ou viraux construits pour fonctionner en tant que système de navette pour livrer l'antigène tumoral aux cellules présentatrices d'antigène et générer une immunité humorale et cellulaire ciblée. Le transgène est généralement guidé par le promoteur précoce du cytomégalovirus et sa séquence intron A adjacente pour assurer l'efficacité de la transcription[53]. L'ADN bactérien agit lui-même comme un PAMP pour stimuler l'activation des cellules immunitaires par le TLR ou d'autres molécules de reconnaissance. L'addition d'une séquence ciblant des antigènes dans le réticulum endoplasmique induit une réponse humorale, et facilite également la production d'une réponse CD8 +, probablement due à un transfert de l'antigène à partir du réticulum endoplasmique vers le cytosol et à la livraison directe de l'ADN à l'APC sur le site de vaccination.

En outre, les vaccins à ADN peuvent être combinés logiquement avec d'autres agents immunostimulateurs, tels que les agonistes de TLR, pour optimiser les réponses immunitaires. Le vaccin à ADN contre le cancer du sein ciblant HER-2/neu, lorsqu'il est utilisé en conjonction avec un agoniste TLR9 ou un agoniste TLR7, a donné lieu à la production de plus grands titres d'anticorps et à une plus grande activité cytotoxique cellulaire dépendante des anticorps, ce qui conduit à un meilleur contrôle des carcinomes mammaires HER2-positif dans des modèles murins[54].

Atteindre une réponse CTL efficace et durable reste l'objectif ultime de vaccins contre le cancer. La génération de lymphocytes T CD4 + via la voie de CMH de classe II est importante pour l'amplification de la réponse immunitaire via les lymphocytes T CD8 + et pour l'entretien de la mémoire immunitaire. Compte tenu de la mauvaise immunogénicité des TAA du soi, la fusion des TAA avec d'autres molécules, comme le fragment C modifié de la toxine du tétanos, peut augmenter la réponse des lymphocytes T auxiliaires, ce qui entraîne une meilleure présentation croisée des TAA et une réponse immunitaire antitumorale accrue. Les vaccins à ADN qui ont été conçus pour cibler des antigènes tumoraux et les molécules costimulatrices B7 sur les APC par fusion du domaine extracellulaire de CTLA-4 à HER-2/neu induisent une réponse immunitaire protectrice

humorale et cellulaire ce qui retarde l'évolution des carcinomes mammaires[54].

Les vaccins à ADN ont également été testés pour cibler les cellules endothéliales du système vasculaire de la tumeur. Un essai sur un vaccin à ADN (testé chez la souris) avec le gène d'expression pour le récepteur du facteur de croissance vasculaire endothélial 2 induirait la mort des cellules endothéliales de la tumeur via les CTL[53], ce qui promettrait une efficacité thérapeutique potentielle contre plusieurs tumeurs murines (mélanome, carcinome du côlon et carcinome du poumon) et la réduction de la dissémination des métastases pulmonaires. Des souris immunisées avec un vaccin à ADN codant pour la molécule E7 du papillomavirus humain de type 16 (HPV- 16) fusionné avec la calréticuline ont développé une forte réponse des lymphocytes T CD8 + spécifiques de la tumeur et ont également montré une réduction spectaculaire de la densité des microvaisseaux dans les nodules tumoraux[53], ce qui suggère un effet antitumoral amplifié, ciblant à la fois les cellules cancéreuses et les cellules endothéliales. D'autres approches de vaccins à ADN ciblant le récepteur de l'angiostatine augmentent également l'inhibition de l'angiogenèse et de la tumeur. De plus, l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux de la tumeur suite à la vaccination par ADN renforce l'effet antitumoral des agents chimiothérapeutiques.

Bien que les vaccins à ADN aient montré des résultats prometteurs dans des études précliniques, le passage à l'être humain reste difficile. En plus de l'injection sous-cutanée ou intradermique, les vaccins à ADN peuvent être injectés directement dans les ganglions lymphatiques pour augmenter l'absorption des antigènes par les APC et promouvoir des signaux inflammatoires locaux. Ceci est actuellement testé en phase I / II dans des essais cliniques pour le mélanome et d'autres cancers[55]. D'autres approches comme l'électroporation, les ultrasons, le laser, les liposomes, etc, ont été testées pour amplifier l'expression de l'antigène et l'efficacité du vaccin à ADN.

IV – B. Les Vaccins à ARN

L'ARN messager (ARNm) issu de tissus tumoraux autologues peut également être utilisé pour induire une réponse CTL spécifique. L'administration de l'ARN total en tant que vaccin génère des réponses immunitaires contre plusieurs antigènes tumoraux afin de réduire la possibilité d'échappement de la tumeur. Contrairement aux vaccins à ADN , les vaccins à ARN sont moins susceptibles de provoquer des effets secondaires ou des maladies auto-immunes en raison de leur dégradation rapide. La vaccination avec des vaccins à ARN est habituellement mise en œuvre avec d'autres agents de stabilisation ou adjuvants , tels que des liposomes. La modification chimique du squelette phosphodiester de l'ARN peut également fournir un signal de « danger » pour stimuler les cellules dendritiques notamment à travers la voie de MyD88. Les vaccins contre le cancer à base d'ARN ont seulement été testés cliniquement dans des essais de phase I / II sur des patients atteints de mélanome ou de carcinome rénal[56].

IV – C. Les Vaccins Viraux

La justification de l'utilisation de virus comme véhicules d'immunisation est basée sur le phénomène que l'infection virale aboutit souvent à la présentation au CMH de classe I / II de peptides spécifiques du virus dans les cellules infectées. Les vecteurs viraux ayant un potentiel pathogène et une faible immunogénicité intrinsèque sont conçus pour coder des TAA ou des TAA combinés avec des molécules immunomodulatrices.

Les premiers vecteurs viraux et les plus largement évalués dans les essais de vaccin contre le cancer sont de la famille des poxviridae, tels que la vaccine, souche de la vaccine Ankara modifiée (MVA), et les avipoxvirus. Les poxvirus ont la capacité d'accueillir un ou plusieurs transgènes de grande taille. La réplication et la transcription des poxvirus sont limitées au cytoplasme, ce qui minimise le risque pour l'hôte de mutagenèse insertionnelle . On pense que l'induction d'une réponse inflammatoire locale par les TLR de l'hôte et autres propriétés de la vaccine ou MVA contribuent au renforcement de la réponse immunitaire.

Un vaccin prometteur contre le cancer de la prostate est Prostavac® (développé par Bavarian Nordic)[57]. Ce vaccin se compose d'un vecteur de la vaccine compétent pour la réplication et d'un vecteur de la variole aviaire incompetent pour la réplication. Chaque vecteur contient des transgènes pour le PSA et trois molécules de co-stimulation (CD80 , CD54 et CD58) qui sont collectivement appelées TRICOM.

Le virus de la vaccine est injecté par voie sous-cutanée une seule fois, le premier jour, afin d'induire une réponse immunitaire contre le PSA, puis les injections suivantes se font avec le virus fowlpox, non répliquatif chez l'homme (pour éviter l'apparition d'anticorps neutralisants antivaccine). Des essais de phase II ont été menés sur 32 et 125 patients porteurs d'adénocarcinomes prostatiques résistant à la castration, métastatiques, paucisymptomatiques et non prétraités par chimiothérapie[57]. Ces résultats montrent un bénéfice de survie globale médian de 8,5 mois (le groupe traité par Prostavac® a montré une amélioration de la survie globale médiane par rapport au groupe contrôle (25,1 vs 16,6 mois , $p = 0,006$)), à confirmer par une étude de phase 3 actuellement en cours, dont les résultats sont attendus pour 2016. Comme pour le sipuleucel-T, la tolérance a été satisfaisante en dehors de réactions cutanées au site d'injection, d'un syndrome grippal et de nausées, tous d'intensité faible à modérée. De même et encore une fois, comme pour l'ipilimumab et le sipuleucel-T, un bénéfice en survie globale sans gain en temps jusqu'à progression a été observé.

TroVax® est un vaccin contre le cancer à base de vecteurs MVA ciblant l'antigène de carcinome rénal 5T4 [57]. La phase III des essais cliniques de TroVax® dans le traitement des patients atteints de cancer rénal métastatique ne satisfaisaient pas au critère principal de survie globale et a donc été abandonné.

Un autre vaccin à base de vecteur MVA TG4010 est constitué de gènes d'expression codant pour l'antigène MUC1 et IL-2. Dans un essai de phase II sur des patients atteints de carcinome rénal[58], le TG4010 combiné avec l'interféron - α 2a et IL-2 a porté la survie globale des patients à 22,4 mois comparé à 19,3 mois pour les patients non-traités par ce

processus.

Un essai de phase II sur le vaccin thérapeutique TG4010 en association avec une chimiothérapie de première ligne (cisplatine et gemcitabine) dans le carcinome rénal avancé a démontré une augmentation significative de 6 mois de la survie médiane (17,1 mois dans les bras expérimentaux vs. 11,3 dans le bras de contrôle)[58]. Des cellules NK activées ont été identifiées comme des biomarqueurs prédictifs de l'issue clinique positive. Un essai de phase III est en cours.

Les adénovirus recombinants sont un autre type de virus qui peut être utilisé en tant que support pour la vaccination génétique. Les adénovirus sont faciles à concevoir à des rendements élevés pour une utilisation clinique. Bien que les évaluations cliniques de vaccins basés sur les adénovirus ont été entravées par une immunité antivirale préexistante, les vecteurs adénovirus exprimant divers TAA (PSA , HER- 2 / neu) sont actuellement testés pour leur efficacité clinique et immunologique[59].

Le virus Herpes simplex de type 1 (HSV- 1) est un virus à ADN double brin enveloppé avec la capacité d'infecter une grande variété de cellules, et d'incorporer des transgènes uniques ou multiples. Un HSV- 1 oncolytique codant pour le facteur de croissance GM-CSF (OncoVex® GM -CSF) a été testé en injection directe dans les lésions de mélanome accessibles de patients[60], il en a résulté un taux de 28% de réponse objective dans un essai clinique de phase II. Les patients répondeurs ont montré une régression des deux lésions injectées et non injectées, montrant un double mécanisme d'action de OncoVex® GM -CSF, qui comprend à la fois une activité oncolytique directe dans les tumeurs injectées et un effet antitumoral de médiation immunitaire secondaire. Un essai de phase III a été lancé sur des patients atteints de mélanome métastatiques inopérables.

Conclusion

Ces nombreux essais donnent beaucoup d'espoir dans l'avenir pour trouver des moyens de prévention et de traitements efficaces contre les cancers. En effet, les résultats sont prometteurs.

Même avec une efficacité partielle, des vaccins dirigés contre les principaux cancers qui touchent les Hommes pourraient sauver des millions de vies chaque année, et faire gagner des années d'espérance de vie à notre espèce si l'ensemble de la population était vaccinée.

Dans les années à venir, les bénéficiaires de ces traitements seraient uniquement les personnes à risque, parce qu'elles sont exposées à des produits cancérigènes, sont prédisposées génétiquement, ou ont déjà développé des lésions précancéreuses.

Mais si les vaccins se montrent sans effets indésirables rédhibitoires, alors des campagnes plus larges de vaccination deviennent envisageables.

Deux cent ans après la découverte des vaccins contre les virus et bactéries, qui ont fait reculer la mortalité d'une manière unique dans l'histoire, voilà que ces mêmes vaccins promettent une nouvelle révolution médicale en s'attaquant aux cancers.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Chatenoud L *et al.* Immunologie: de la biologie à la clinique. 6e édition. Paris: Lavoisier; 2012, 469p.
- [2] Rock KL *et al.* Protein degradation and the generation of MHC class-I presented peptides. *Adv Immunol.* 2002; 80:1-70.
- [3] Raasi S *et al.* A ubiquitin-like protein which is synergistically inducible by interferon gamma and tumor necrosis factor alpha. *Eur J Immunol.* 1999; 29(12):4030-6.
- [4] Ackerman AL *et al.* Cellular mechanisms governing cross-presentation of exogenous antigens. *Nat Immunol.* 2004; 5(7):678-84.
- [5] Guermonprez P *et al.* ER-phagosome fusion defines an MHC class-I cross-presentation compartment in dendritic cells. *Nature.* 2003; 425(6956):397-402.
- [6] Houde M *et al.* Phagosomes are competent organelles for antigen cross-presentation. *Nature.* 2003; 425(6956):402-6.
- [7] Van den Eyde BJ *et al.* Differential processing of class-I restricted epitopes by the standard proteasome and the immunoproteasome. *Curr Opin Immunol.* 2001; 13(2):147-53.
- [8] Zitvogel L. Dendritic and natural killer cells cooperate in the control/switch of innate immunity. *J Exp Med.* 2002; 195(3):F9-14.
- [9] Cerwenka A *et al.* Ectopic expression of retinoic acid early inducible 1 gene permits natural killer cell mediated rejection of a MHC class-I bearing tumor in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98(20):11521-6.
- [10] Hanahan D *et al.* Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144:646-74.
- [11] Alberts B *et al.* L'essentiel de la biologie cellulaire. 2ème édition. Paris : Flammarion ; 2004, 734p.
- [12] El Hage F *et al.* Immune response and cancer. *Bull Cancer.* 2008; 95(1):57-67.
- [13] Chapel H *et al.* Immunologie clinique: sciences médicales. 4e édition. Bruxelles: De Boeck; 2004, 344p.
- [14] Dunn G *et al.* Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology.* 2002; 3:991-8
- [15] Chouaib S *et al.* Immunothérapie du cancer : espoirs et réalités. *Médecine Sciences.* 2006; 22:755-9

- [16]Desbois M *et al.* Breaking immune tolerance in cancer. Bull Cancer.2015;102:34-52
- [17]Centre d'information de l'Organisation mondiale de la santé sur l'introduction du vaccin anti-HPV. (dernière consultation 05/15). [en ligne]<http://www.who.int/immunization/hpv/en/>
- [18]Brun JL *et al.* Prophylactic and therapeutic vaccination against human papillomavirus. Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction. 2007;36:631-41
- [19]The Future II study group. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions. N Engl J Med 2007;356:1915-27
- [20]Brun JL. Human papillomavirus vaccines. Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction. 2008;375,S155-S166
- [21]Olsson SE *et al.* Induction of immune memory following administration of a prophylactic quadrivalent human papillomavirus (HPV) types 6/11/16/18 L1 virus-like particle (VLP) vaccine. Vaccine. 2007;25:4931-9
- [22]Raza S *et al.* Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma:a systematic review. Br J Cancer. 2007;96:1127-34
- [23]Merle P *et al.* Epidemiology, natural history and pathogenesis of hepatocellular carcinoma.Cancer Radiothérapie.2005;9:452-7
- [24]Pineau P *et al.* Hepatitis B vaccination: A major player in the control of primary liver cancer. Pathol Biol (Paris). 2009, doi:10.1016/j.patbio.2009.03.004
- [25]The National Breast Cancer Coalition. (dernière consultation 05/15). [en ligne] www.breastcancerdeadline2020.org
- [26]Delhem N *et al.* Effect of Nasopharyngeal Carcinoma-Derived Exosomes on Human Regulatory T Cells.J Natl Cancer Inst.2015 ;107 (1): dju363
- [27]Momtaz P *et al.* Immunologic checkpoints in cancer therapy: focus on the programmed death-I (PD-I) receptor pathway. Pharmacogenomics and personalized Medicine. 2014; 7: 357-65
- [28]Naidoo J *et al.* Immune modulation for cancer therapy. Br Rev Cancer. 2014 ; 111:2214-19
- [29]Durgan K *et al.* Targeting NKT cells and PD-L1 pathway results in augmented anti-tumor responses in a melanoma model. Cancer Immunol Immunother. 2011;60:547-58
- [30]Tallerico R. *et al.* Analysis of T and NK cells immune response in Ipilimumab treated Melanoma patients. Journal of Translational Medicine. 2015;13(suppl 1):08

- [31]Schadendorf D. *et al.* Pooled Analysis of Long-Term Survival Data From Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *Journal of Oncology*. 2014;56:2736
- [32]Chester C *et al.* Immunotherapeutic approaches to ovarian cancer treatment. *J Immun of Cancer*. 2015 ; doi 10.1186/40425-015-0051-7 (dernière consultation 06/15)
- [33]Khan H *et al.* Evolving concepts:Immunity in oncology from targets to treatments. *Journal of Oncology*. 2015;ID 847383:15p
- [34]Brahmer J. *et al.* Nivolumab: targeting PD-1 to bolster antitumor immunity. *Future Oncology*. 2015;11:1307-26
- [35]Robert C. *et al.* Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2015;372:2521-32
- [36]Wang D. *et al.* Checkpoint inhibitors in immunotherapy of ovarian cancer. *Tumor Biology*. 2015;36:33-9
- [37]Hawkes E. *et al.* Programmed cell death-1 inhibition in lymphoma. *The Lancet*. 2015;16:234-45
- [38]Makkouk A. *et al.* Cancer Immunotherapy and Breaking Immune Tolerance: New Approaches to an Old Challenge. *Cancer Res*. 2014;75:5-10
- [39]Larkin J. *et al.* Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med*. 2015;373:23-34
- [40]Berger M *et al.* Phase I study with an autologous tumor cell vaccine for locally advanced or metastatic prostate cancer. *J Pharm Pharm Sci*. 2007;10:144-152
- [41]Wood LD. *et al.* The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science*. 2007;318:1108-13
- [42]Eggermont A. Immunotherapy: Vaccine trials in melanoma. *Nature*. 2009;6:256-8
- [43]Hanna MJ. Immunotherapy with autologous tumor cell vaccines for treatment of occult disease in early stage colon cancer. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2008;8:8:1156-1160
- [44]Farles B *et al.* Impact of GM-CSF vaccination with an allogenic whole-cell melanoma vaccine. *Clin Cancer Res*.2009;15(22):7029-7035
- [45]Pracht M. *et al.* Immunothérapie : une nouvelle arme contre le cancer de la prostate. *Rev Med Suisse*. 2013;387 :1070-1075

- [46]Giaconne G. *et al.* A phase III study of belagenpumatucel-L, an allogeneic tumour cell vaccine, as maintenance therapy for non-small cell lung cancer. *EJCA*. 2015;7:35
- [47]Guo C *et al.* Therapeutic cancer vaccines : past, present and future. *Adv Cancer Res*. 2013;119:421-475
- [48]Yi H. *et al.* Targeting the Immunoregulator SRA/CD204 Potentiates Specific Dendritic Cell Vaccine-Induced T-cell Response and Antitumor Immunity. *Cancer Res*. 2011;71:6611
- [49]Eymard JC *et al.* State of the art about new therapeutic vaccines in prostate cancer : dendritic cells, engineered tumor cells and recombinant virus. *Bull cancer*. 2007;94:69-76
- [50]Toubaji A. *et al.* Pilot study of mutant ras peptide-based vaccine as an adjuvant treatment in pancreatic and colorectal cancers. *Cancer Immunol*. 2008;57:1413-20
- [51]Grinshtein N *et al.* Neoadjuvant vaccination provides superior protection against tumor relapse following surgery compared with adjuvant vaccination. *Cancer Res*. 2009;69:3979-3985
- [52]Institut Pasteur. (dernière consultation 06/15). BCG et cancer de la vessie, [en ligne]. www.pasteur.fr
- [53]Barucca A. *et al.* Recombinant DNA Technology for Melanoma Immunotherapy. *Molecular Biotechnology*. 2014;56:1032-39
- [54]Fioretti D *et al.* DNA vaccines : Developing new strategies against cancer. *Journal of biomedicine and biotechnology*. 2010;35:374-378
- [55]Jacob J *et al.* Combining human and rat sequences in Her-2 DNA vaccines blunts immune tolerance and drives antitumor immunity. *Cancer Res*. 2010;70:119-128
- [56]Kreiter S. *et al.* mRNA Vaccination and Personalized Cancer Therapy. *Cancer Immunotherapy Meets Oncology*. 2014;2:89-100
- [57]Combe P. *et al.* Trial Watch: Therapeutic vaccines in metastatic renal cell carcinoma. *OncoImmunology*. 2015;4
- [58]Pracht M *et al.* Immunothérapie : une nouvelle arme contre le cancer de la prostate. *Rev Med Suisse*.2013;1070-1075
- [59]Ke X. *et al.* Oncolytic Virus OncoVex~(GM-CSF) for Cancer Therapy:Progress in Research. *Chinese Journal of Cancer Biotherapy*;2012-01
- [60]Triulzi C *et al.* Antibody-dependant natural killer cell-mediated cytotoxicity engendered by a kinase-inactive human HER-2 adenovirus-based vaccination mediates resistance to

breast tumors. *Cancer Res.* 2010;70:7431-41

[61]Hudrisier D.(dernière consultation 01/15).Immunologie chapitre dix complexe majeur d'histocompatibilité, [en ligne].www.microbiologybook.org

[62]Simon M.(dernière consultation 02/15).Immunologie activation des lymphocytes, [en ligne].www.cours-pharmacie.com/immunologie

[63]Niiron H *et al.* Regulation of B-cell fate by antigen-receptor signals. *Nat Rev Immun.*2002;doi:10.1038/nri955 (dernière consultation 02/15)

[64]Roche-Lestienne C *et al.* Origines de la résistance au traitement par imatinib mésylate. *Med Sciences.*2004;20(12):1125-30

[65]Magniez M.(dernière consultation 03/15). Le test de Ames pour évaluer le pouvoir cancérigène d'une substance, [en ligne].www.technobio.fr/article

[66]Brosselin P. (dernière consultation 03/15). Cancérogenèse, [en ligne].www.sante-environnement-travail.fr

[67]Info cancer. (dernière consultation 05/15). Les tumeurs malignes, [en ligne].www.arcagy.org/infocancer

[68]Dillner J. (dernière consultation 05/15). Schematic drawing of the human papillomavirus genome, [en ligne].www.expertreviews.org

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2014 / 2015

Nom : Delpierre Denis
Prénom : Maryll

Immunothérapie et Cancer

Mots-clés : Immunothérapie, Vaccination, Cancer

Résumé :

L'immunothérapie représente un enjeu majeur dans le traitements des cancers. En effet, le système immunitaire joue un rôle important dans la genèse et le développement de tumeurs. De plus en plus de traitements visent à « éduquer » le système immunitaire pour prévenir l'apparition de cancers, c'est le principe de la vaccination préventive, ou pour qu'il élimine les cellules tumorales, c'est le principe de la vaccination thérapeutique.

Tous les chercheurs s'accordent à dire que cette méthode de traitement est l'avenir des traitements anticancéreux, Alors, à quand un « vaccin anti-cancer » ?

Membres du jury :

Président : Monsieur Jean-Louis Cazin,

Professeur de Pharmacologie et Pharmacie Clinique à la faculté de Pharmacie,
Université de Lille 2

Docteur ès Sciences Pharmaceutiques

Directeur du centre de Pharmacologie et Pharmacie Clinique en Cancérologie au
centre Oscar Lambret de Lille (centre de lutte contre le cancer de la région Nord-Pas de
Calais)

Conseil Ordinal élu à l'Ordre National des Pharmaciens section H

Assesseur : Monsieur Thierry Dine,

Praticien Hospitalier au Centre Hospitalier Loos-Haubourdin

Professeur de Pharmacie clinique à l'Université de droit et santé Lille 2

Membre extérieur : Monsieur Guillaume Landreau,

Docteur en Pharmacie à Hellemmes-Lille