

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

**Soutenue publiquement le mardi 6 décembre 2022
Par M Erik VANHOLLEBEKE**

**Inhibiteurs de points de contrôle en immuno-oncologie :
biomarqueurs prédictifs de réponse, mécanismes de résistance et
associations thérapeutiques**

Membres du jury :

Président : Professeur Christophe CARNOY, Faculté de Pharmacie de Lille

Directeur, conseiller de thèse : Professeur Benjamin BERTIN, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseur(s) : Professeur Philippe CHAVATTE, Faculté de Pharmacie de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Docteur Florent TEXIER, Servier UK & Ireland

Faculté de Pharmacie de Lille
3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Christel BEAUCOURT
Olivier COLOT
Kathleen O'CONNOR
Jérôme FONCEL
Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen
Premier Vice-Doyen
Vice-Doyen Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoires-Partenariats
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen International et Communication
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Guillaume PENEL
Éric BOULANGER
Damien CUNY
Sébastien D'HARANCY
Hervé HUBERT
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Claire PINÇON
Vincent SOBANSKI
Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études
Assesseur aux Ressources et Personnels
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté
Responsable des Services
Représentant étudiant

Delphine ALLORGE
Benjamin BERTIN
Stéphanie DELBAERE
Anne GARAT
Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87

M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87

M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85

Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85

M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille
03 20 96 40 40
<https://pharmacie.univ-lille.fr>

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

Remerciements

Avant de présenter le sujet de cette thèse, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de cette étude et m'ont aidé dans la rédaction de cette thèse. Tout d'abord, je tiens à remercier les membres du Jury pour leur lecture attentive de mon manuscrit, leur participation et leurs commentaires lors de la soutenance. Je remercie particulièrement le Pr. Benjamin Bertin pour m'avoir suivi et encadré durant cette période de travail et de rédaction. Ses conseils m'ont permis d'analyser le cœur de mon sujet, de faire preuve de synthèse et d'orienter mon étude vers des pistes de réflexion pertinentes. Je tiens également à remercier le Dr. Jose Alexander Meza, oncologue à la clinique " Unidad de Cancerologia ", pour m'avoir accompagné durant mon stage hospitalier de 4ème année et pour m'avoir donné l'envie de travailler sur ce sujet. Je tiens à remercier le Dr Despagne et le Dr Belhassen, qui m'ont accompagné durant mes stages à la pharmacie Trianon et lors de mes heures de travail en officine. Je tiens également à remercier le Prof. Philippe Chavatte qui m'a permis d'effectuer ce stage d'externe en pharmacie à Guadalajara et pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse. Je remercie également le Dr. Aida Myftiu pour m'avoir suivi pendant mon stage de 5ème année chez Sanofi et m'avoir guidé dans mon parcours professionnel. Je tiens à remercier le Dr. Florent TEXIER de m'avoir suivi lors de ma mission de VIE aux Pays-Bas alors qu'il était directeur général de la filiale Servier Nederland et pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je remercie M. Rik Van de Kamp, pour m'avoir accompagné lors de ma mission VIE chez Servier alors qu'il était mon manager et responsable de la Division Business Development et Marketing Cardiologie. Enfin, je tiens à remercier mes collègues d'Inserm Transfert pour avoir partagé avec moi leurs expériences passées dans le milieu de la recherche, ce partage d'expériences pratiques m'a aidé dans ce travail bibliographique. Mes remerciements iront ensuite aux membres de ma famille pour leur soutien tout au long de mes études. Je tiens également à remercier les professeurs et maîtres de conférences de l'Université de Lille pour la qualité de l'enseignement qu'ils ont dispensé durant ces six années d'études.

Liste des abréviations

ACT : Thérapie cellulaire adoptive
ATR : Ataxie télangiectasie et liée à Rad3
B2M : Beta-2-microglobuline
CAR T : Récepteur antigénique chimérique
CBNPC : cancer bronchique non à petites cellules
CCR : cancer colorectal
CCR1 : C-C Récepteur de chimiokine 1
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
Complexe MMR : complexe de réparation des mésappariements de bases
CPNPC : Le cancer du poumon non à petites cellules
CXCL12 : Ligand 12 de la chimiokine à motif C-X-C
CXCR2 : Récepteur 2 des chimiokines CXC
DAMP : Les motifs moléculaires associés aux dégâts
DC : Cellules dendritiques
DNMT : ADN méthyltransferase
FMT fardeau mutationnel tumoral
GIST : Tumeurs stromales gastro-intestinales
HDAC : Histone deacetylases
HLA : Antigène leucocytaire humain
IDO 1 : Indoleamine 2,3-dioxygénase 1
IFN : interféron
IPC : Inhibiteur de point de contrôle
IRF1 : Facteur 1 de régulation des interférons
JAK1 et JAK2 : Janus kinase 1 et 2
LAG3 : Lymphocyte-activation gene 3
MAPK : Protéine kinase activée par les mitogènes
MDSC : Les cellules myéloïdes suppressives (
MSI : instabilité des Microsatellites
NGS : Séquençage nouvelle génération
ORR : Taux de réponse global
PD-1 : Ligand de mort programmé 1
PD-L1 : Protéine 1 de mort cellulaire programmée
PFS : survie sans progression
PRR : Récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires
RCC : Carcinome à cellules rénales
SG : survie globale
STAT1 le transducteur de signal et l'activateur de la transcription 1
TAA : Antigène associé à la tumeur
TCR : Le récepteur des cellules T
TIM3 : Immunoglobuline à cellules T et la molécule 3 contenant le domaine de la mucine

TNF : Facteur de nécrose tumorale

VEGF : Facteur de croissance endothélial vasculaire

VISTA : Le suppresseur de type immunoglobuline à domaine V de l'activation des lymphocytes T

Table des matières

Remerciements	10
Liste des abréviations	11
Glossaire.....	16
Introduction.....	20
Généralités	23
I) IMMUNOLOGIE DU CANCER	23
A) Introduction.....	23
B) Surveillance immunitaire du cancer	23
C) Dysfonctionnement du cycle d'immunité contre le cancer chez les patients atteints de cancer.....	26
D) Points de contrôle immunitaires	28
II) IMMUNOTHÉRAPIE DU CANCER.....	31
A) Introduction.....	31
B) Objectifs de l'immunothérapie du cancer	32
C) Types d'immunothérapies du cancer.....	33
III) REPONSE AUX INHIBITEURS DE POINTS DE CONTROLE	36
Approche méthodologique	38
Chapitre 1 : Biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaires	39
I) MARQUEURS PRÉDICTIONNELS INTERVENANT À L'ÉTAPE 1 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA LIBÉRATION DES ANTIGÈNES DU CANCER.....	40
A) Les néoantigènes et la charge de mutation	40
B) Les cancers déficients en complexe MMR de l'ADN / Instabilité des microsatellites : la génétique du cancer rencontre l'immunothérapie.....	42
II) MARQUEURS PRÉDICTIONNELS INTERVENANT AUX ÉTAPES 2 ET 3 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE SUIVIE DE L'AMORÇAGE ET DE L'ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T.....	44
A) L'état fonctionnel des cellules immunitaires	44
III) MARQUEURS PRÉDICTIONNELS INTERVENANT AUX ÉTAPES 4 ET 5 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTITUMORAL : LE TRAFIC ET L'INFILTRATION DES CELLULES T ACTIVÉES.	46
A) L'infiltration de cellules immunitaires dans le microenvironnement tumoral	46
B) Les modifications épigénétiques	47
C) La flore microbienne intestinale affecte la fonction immunitaire de l'hôte	48
IV) MARQUEURS PRÉDICTIONNELS INTERVENANT LORS DES 2 DERNIÈRES ÉTAPES DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA RECONNAISSANCE ET L'ÉLIMINATION DES CELLULES CANCÉREUSES	50
A) L'expression de PD-1/ PD-L1	50
B) Limite de l'expression de PD-L1 comme marqueur prédictif.....	51
Chapitre 2 : Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de points de contrôle.....	53

I) INTRODUCTION.....	54
II) MECANISMES DE RESISTANCE INTERVENANT A L'ETAPE 1 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA LIBERATION DES ANTIGÈNES.....	55
A) La modification des antigènes spécifiques des tumeurs	55
III) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 2 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTITUMORAL : PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE ET CO-STIMULATION	56
A) La tolérance induite par les cellules dendritiques	56
IV) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 3 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : AMORÇAGE ET ACTIVATION DES CELLULES T NAÏVES	57
A) Les troubles de l'activation des lymphocytes T	57
V) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 4 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LE TRAFFIC DES LYMPHOCYTES T ACTIVES.....	59
A) La tolérance induite par les cellules T régulatrices	59
B) Les cellules suppressives dérivées de myéloïdes :	59
VI) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 5 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : INFILTRATION DES LYMPHOCYTES T ACTIVES	61
A) Diminution de l'infiltration des cellules T	61
VII) MECANISMES DE RESISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 6 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA RECONNAISSANCE DES CELLULES CANCEREUSES PAR LES LYMPHOCYTES T	63
A) Perte de présentation des antigènes.....	63
VIII) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À LA DERNIÈRE ÉTAPE DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA DESTRUCTION DES CELLULES CANCÉREUSES PAR LES LYMPHOCYTES T.....	65
A) Environnement tumoral immunosuppresseur	65
B) Résistance causée par des changements dans l'expression de la PD-L1	67
<i>Chapitre 3 : Approches combinées avec le blocage des points de contrôle immunitaire</i>	<i>72</i>
I) COMBINAISONS AVEC LA STIMULATION DES SIGNAUX DE L'ANTIGÈNE ET DE DANGERS (étape 1).....	74
A) La chimiothérapie.....	74
B) La radiothérapie.....	75
C) Thérapies ciblées :.....	76
II) COMBINAISONS AVEC LA STIMULATION DE LA PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE ET LA CO-STIMULATION (étape 2).....	78
A) Les vaccins Peptidiques	78
B) Les vaccins cellulaires	79
C) Les virus oncolytiques	80
D) Les Anti-CD40 et Anti-CD47.....	80
III) COMBINAISONS AVEC LA STIMULATION DE L'ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T (étape 3).....	82
A) Le double blocage des points de contrôle immunitaire	82
B) Les nouveaux points de contrôle immunitaires.....	83

IV) COMBINAISONS AVEC L'INHIBITION DU TRAFIC DES CELLULES RÉGULATRICES T OU DES MDSC (étape 4)	85
V) COMBINAISONS AVEC DES STIMULATEURS DE L'INFILTRATION DES LYMPHOCYTES T (étape 5)	86
A) Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.....	86
B) Les modulations épigénétiques.....	87
VI) COMBINAISONS AVEC DES STIMULATEURS DE RECONNAISSANCE DES ANTIGÈNES (étape 6)	89
VII) COMBINAISONS QUI AUGMENTENT L'ÉLIMINATION DES TUMEURS (étape 7)	91
A) Adénosine.....	91
B) Facteur de croissance transformant- β	92
C) Indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO)	92
VIII) PERSONNALISATION DE L'IMMUNOTHERAPIE.....	94
A) Les tumeurs de désert immunitaire :.....	95
B) Les tumeurs exclues du système immunitaire :.....	96
C) Les tumeurs immunitaires enflammées :.....	96
D) Les tests de diagnostic compagnons.....	98
CONCLUSION	100
BIBLIOGRAPHIE	104

Glossaire

Immunité innée :

Première ligne de défense du système immunitaire est représentée par les cellules de l'immunité innée : les cellules dendritiques, les Natural Killer (NK), les macrophages, ainsi que les polynucléaires (neutrophiles, basophiles et éosinophiles). Ces cellules réalisent la phagocytose, c'est-à-dire qu'elles détruisent les corps étrangers de manière non spécifique.

Immunité adaptative :

Seconde ligne de défense de l'organisme, elle implique une reconnaissance spécifique des antigènes présentés par des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et est caractérisée par la mise en place d'une mémoire immunologique capable de se réactiver rapidement en cas de nouvelle rencontre avec l'antigène. Les principaux acteurs de cette immunité adaptative sont les lymphocytes T, qui jouent un rôle primordial dans l'immunité à médiation cellulaire, et les lymphocytes B impliqués dans l'immunité à médiation humorale (assurée par la production d'anticorps). Les lymphocytes T sont de deux type, les lymphocytes Th et les lymphocytes T cytotoxiques.

Biomarqueur :

Caractéristique mesurable, indicatrice de processus biologiques (qu'ils soient normaux ou pathologiques) et/ou de réponses pharmacologiques à une action thérapeutique. Les biomarqueurs peuvent être utilisés pour le dépistage et le diagnostic d'une maladie, ainsi que pour l'évaluation de la réponse ou de la tolérance à un traitement.¹

Résistance primaire à l'immunothérapie² :

Scénario clinique dans lequel un cancer ne répond pas à une stratégie d'immunothérapie. Les mécanismes à l'origine de l'absence de réponse à l'immunothérapie peuvent inclure une résistance immunitaire adaptative.

Résistance immunitaire adaptative à l'immunothérapie :

Mécanisme de résistance dans lequel un cancer est reconnu par le système immunitaire mais se protège en s'adaptant à l'attaque immunitaire. Étant donné la nature évolutive de l'interaction entre le système immunitaire et les cellules cancéreuses, cela peut se manifester cliniquement par une résistance primaire, des réponses mixtes ou une résistance acquise.

Résistance acquise à l'immunothérapie :

Scénario clinique dans lequel un cancer répond initialement à l'immunothérapie mais rechute et progresse après un certain temps.

Combinaison thérapeutique :

La thérapie combinée, une modalité de traitement qui associe deux ou plusieurs agents thérapeutiques, est un pilier du traitement du cancer. La combinaison de médicaments anticancéreux améliore l'efficacité par rapport à l'approche monothérapeutique, car elle cible des voies clés d'une manière synergique ou additive caractéristique.

Médecine stratifiée :

Approche thérapeutique où l'objectif est de sélectionner les patients auxquels administrer un traitement en fonction d'un marqueur prédictif, afin de ne traiter que la sous-population susceptible de recevoir un bénéfice du traitement³. Elle tente donc de proposer au patient un traitement adapté aux caractéristiques de sa tumeur.

Médecine personnalisée (médecine de précision) :

Terme consistant en un abus de langage pour désigner le terme médecine « stratifiée » compte tenu du fait que la validation du couple marqueur/traitement est fondée sur une approche populationnelle classique de validation de thérapeutique. La particularité de cette approche est limitée au fait que la population des patients est stratifiée en sous-populations en fonction du marqueur pressenti comme prédictif. cf. terme (médecine) « stratifiée ».⁴

Thérapie ciblée :

Traitement qui n'a démontré de bénéfices que chez certains patients identifiés par un marqueur prédictif déterminé par un test compagnon. La cible est représentée par des récepteurs ou des signaux cellulaires altérés qui vont être bloqués par ces nouveaux médicaments qui présentent l'avantage de ne s'attaquer qu'aux cellules tumorales porteuses de l'anomalie, dont ils bloquent la prolifération tout en respectant les cellules normales, ce qui génère moins d'effets secondaires.

Test compagnon :

Test diagnostique permettant de sélectionner, en fonction de leur statut pour un marqueur prédictif identifié par ce test, uniquement les patients chez lesquels le traitement est susceptible d'apporter un bénéfice parmi ceux diagnostiqués pour une

maladie donnée. Le test est considéré comme « compagnon » d'utilisation du traitement⁵.

Études précliniques :

Les études précliniques permettent d'acquérir les premières connaissances sur le comportement d'un candidat médicament, indispensable avant les essais chez l'homme. Les expérimentations sont essentiellement menées sur l'animal⁶. Pour diminuer le recours à l'expérimentation animale, des méthodes alternatives sont étudiées. Par exemple, la mise au point de tests sur des cultures de cellules humaines permet d'apprécier la toxicité d'un candidat médicament pour l'homme de manière plus prédictive. Parmi eux, nous serons amenés à évoquer le modèle murin de mélanome B16, qui est le modèle de mélanome métastatique le plus fréquemment utilisé pour les études précliniques.

Études cliniques :

Les essais cliniques ont pour but l'évaluation de nouveaux traitements du cancer ou de nouvelles modalités de soins ;

- Les essais de phase I ont pour objectif d'évaluer la tolérance de l'organisme et la toxicité d'un tout nouveau traitement
- Les essais de phase II précisent l'activité clinique ou pharmacologique d'un traitement à la dose recommandée à l'issue de la phase I.
- Les essais de phase III sont des essais comparatifs. Ils permettent de comparer le nouveau traitement avec le traitement utilisé habituellement, dit "traitement de référence" ou "traitement standard", afin de déterminer son efficacité.

Ces études sont constitutives d'une partie du dossier de demande d'autorisation de mise sur le marché (AMM) du futur médicament ; elles répondent à des normes internationales de qualité scientifique et sont étroitement évaluées par les autorités de santé au moment de délivrer l'AMM⁷.

Tumeur (néoplasie) : une augmentation de volume d'un tissu, sans précision de cause. Une néoplasie peut concerner n'importe quel type de tissu. Les tumeurs peuvent être maligne ou bénigne. On parle de cancer pour décrire les tumeurs malignes.

Cancer : maladie dans laquelle certaines cellules de l'organisme se développent de manière incontrôlée et se propagent à d'autres parties du corps. Le cancer peut apparaître presque partout dans le corps humain.

Parenchyme tumoral : compartiment tumoral constitué de cellules néoplasique ou cellules tumorales, caractérisées par une croissance anormale de cellules, également connue sous le nom de tumeur.

Stroma tumoral : second compartiment tumoral induit par les cellules néoplasiques est la structure de support, nécessaire au soutien nutritionnel et à l'élimination des déchets du parenchyme tumoral. Il se compose principalement d'une membrane basale, des fibroblastes, de la matrice extracellulaire, des cellules immunitaires et du système vasculaire.

Recherche fondamentale : recherche exploratoire visant à accroître les connaissances relatives aux sciences de la vie et de la santé et améliorer la compréhension des phénomènes biologiques⁸.

Recherche biomédicale : recherche organisée et pratiquée sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques et médicales⁹.

Recherche translationnelle : la recherche visant à convertir les résultats de la recherche fondamentale en résultats bénéficiant directement à l'homme par le biais d'une collaboration entre chercheurs et cliniciens, car elle doit permettre un transfert de connaissances dans les deux sens.

Introduction

Le premier cas documenté d'immunothérapie anticancéreuse remonte au début des années 1890, lorsque William B. Coley a administré des streptocoques vivants à un patient atteint d'un cancer inopérable pour stimuler son système immunitaire et réussir à le guérir. Cependant, en raison du manque de compréhension du système immunitaire à l'époque et du développement rapide de la chimiothérapie et de la radiothérapie dans les années 1950, l'immunothérapie n'a trouvé que récemment sa place dans les stratégies de lutte contre le cancer. À mesure que nous en apprenons davantage sur le cycle immunitaire anti-tumoral, il devient évident que les cellules immunitaires jouent un rôle clé dans la limitation de la croissance des cellules malignes. Ce jeu dynamique de cache-cache entre les cellules immunitaires et les cellules cancéreuses, ou immuno-édition du cancer, comporte trois phases : l'élimination, l'équilibre et la fuite. Bien que les mécanismes détaillés qui sous-tendent chaque phase ne soient pas entièrement compris, il est clair que la coordination entre l'immunité innée et l'immunité adaptative est cruciale pour une destruction réussie des tumeurs. La dérégulation de ce processus conduit à des tumeurs qui échappent au contrôle immunitaire. Ces dernières années, avec les résultats cliniques impressionnants des agents ciblant les points de contrôle immunitaires, le détournement des points de contrôle immunitaires par les cellules tumorales a pris une place centrale parmi les nombreux mécanismes proposés pour l'échappement immunitaire des tumeurs. Ces points de contrôle représentent un ensemble de molécules inhibitrices qui sont induites pendant une réponse immunitaire active et servent de mécanisme de rétroaction négative afin de limiter les dommages tissulaires collatéraux. Ils jouent ainsi un rôle fonctionnel dans la réponse immunitaire adaptative et l'autotolérance. Le blocage des points de contrôle immunitaire fait référence à des stratégies ciblées visant à perturber la suppression immunitaire cooptée par la tumeur pour renforcer l'immunité anti-tumorale. La protéine 4 associée aux lymphocytes T cytotoxiques (CTLA-4) et la mort cellulaire programmée 1 (PD-1) ont été les premiers points de contrôle immunitaires caractérisés et présentent aujourd'hui le plus large éventail de thérapies à base d'anticorps. Ces thérapies sont passées d'approches prometteuses à des agents de première et deuxième ligne approuvés par les autorités de santé pour un certain nombre de cancers immunogènes en raison de leur bénéfice clinique substantiel dans les contextes métastatiques. Le blocage de CTLA-4 ou PD-1 a entraîné des réponses durables sans précédents, avec des profils de toxicité généralement favorables. Cependant, dans de nombreuses tumeurs, ces immunothérapies ne sont efficaces que chez une petite proportion de patients. Définir des biomarqueurs qui prédisent les effets thérapeutiques et les événements indésirables est donc essentiel.

Dans ce manuscrit, nous aborderons les biomarqueurs de réponse aux thérapies anti-PD1 et anti-CTL4 qui apparaissent à différentes étapes du cycle cancer-immunité et qui nous aideront à anticiper son bon déroulement au profit d'une réponse immunitaire

active, tels que les néoantigènes et la charge mutationnelle, le statut fonctionnel des cellules immunitaires, l'infiltration des cellules immunitaires dans le microenvironnement tumoral ou encore l'expression de PD-1.

Puis, toujours à la lumière du cycle de l'immunité anti-tumoral, nous explorerons les mécanismes qui sous-tendent la résistance à l'immunothérapie et notamment l'induction de tolérance immunitaire, l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales, le dysfonctionnement des cellules T, la diminution de l'infiltration des cellules T et leur épuisement.

Afin de fournir le contexte approprié pour la discussion des biomarqueurs de réponse et des mécanismes de résistance aux inhibiteurs de points de contrôle, nous passerons tout d'abord en revue l'interaction entre les tumeurs solides et le système immunitaire, nous décrirons les modes de défaillance de la réponse immunitaire et le rôle physiologique des points de contrôle immunitaire. Nous passerons ensuite en revue les mécanismes connus des inhibiteurs des points de contrôle immunitaires, en nous concentrant sur les agents approuvés par les autorités de santé qui ciblent CTLA-4 et PD-1.

Enfin, sur la base de ces mécanismes, nous proposerons des stratégies thérapeutiques combinées nouvelles et prometteuses impliquant le blocage des points de contrôle immunitaires dans le contexte du cycle de l'immunité anti-tumoral, visant à augmenter les taux de réponse aux traitements uniques. Plus précisément, nous examinerons les combinaisons qui favorisent la libération et la présentation de l'antigène, amplifient davantage l'activation des cellules T, inhibent le trafic des cellules T régulatrices ou des cellules suppressives myéloïdes, stimulent l'infiltration des cellules T intratumorales, augmentent la reconnaissance du cancer par les cellules T et stimulent la destruction de la tumeur.

Pour finir, nous aborderons la personnalisation de l'immunothérapie, essentielle pour maximiser les résultats cliniques. Les indicateurs prédictifs, les mécanismes de résistance et les thérapies combinées décrits dans ce manuscrit constituent une base pour améliorer la médecine de précision. Une conclusion générale viendra éclairer les principaux aboutissements de cette thèse.

Généralités

I) IMMUNOLOGIE DU CANCER

A) Introduction

Les principales caractéristiques du système immunitaire sont ses capacités à :

- Distinguer le soi du non-soi
- Reconnaître et répondre à une multitude d'antigènes étrangers avec une excellente spécificité
- Se souvenir des antigènes précédemment rencontrés et mobiliser rapidement une réponse élargie contre les envahisseurs étrangers porteurs de ces antigènes
- Balayer en permanence l'ensemble du corps à la recherche d'antigènes.

En théorie, ces propriétés font du système immunitaire un outil idéal pour défendre l'hôte contre les cancers en développement ou récurrents.

Les recherches montrent que le système immunitaire contribue effectivement à prévenir le développement du cancer. Cependant, elles montrent également que les tumeurs en croissance évoluent pour échapper à la destruction par le système immunitaire. Nous explorerons ces concepts.

B) Surveillance immunitaire du cancer

L'évolution des connaissances sur le système immunitaire a permis de mieux comprendre son rôle dans la lutte contre certains types de cancer. Par exemple, de nombreuses tumeurs expriment de multiples antigènes qui ne sont pas exprimés dans les tissus normaux, ce qui laisse entrevoir la possibilité de réponses immunitaires. Cette découverte a conduit à l'hypothèse de la surveillance immunitaire, qui a été conçue pour la première fois il y a plus d'un demi-siècle. Cette hypothèse suggère qu'un rôle fondamental du système immunitaire est de surveiller l'organisme à la recherche de tumeurs, comme il le fait pour les infections par des agents pathogènes, en les reconnaissant et en les éliminant sur la base de l'expression d'antigènes spécifiques aux tumeurs¹⁰.

a) Antigènes spécifiques des tumeurs

Les tumeurs diffèrent fondamentalement de leurs homologues normaux tant par leur comportement biologique que par leur composition antigénique. L'instabilité génétique, une caractéristique fondamentale du cancer, est un mécanisme primaire impliqué dans

la génération d'antigènes spécifiques aux tumeurs. Les données accumulées à ce jour sur plus de 1000 cancers humains démontrent que les caractéristiques génétiques et chromosomiques altérées des cellules tumorales entraînent un profil antigénique tumoral distinct. Les cancers expriment entre 50 et 1000 petites mutations dans les régions codantes des gènes, dont environ 20% peuvent potentiellement créer de nouveaux peptides antigéniques ou néoantigènes qui sont finalement reconnus par les lymphocytes T¹¹. En outre, les délétions, les amplifications et les réarrangements de chromosomes peuvent donner lieu à de nouvelles séquences génétiques résultant de la fusion de séquences codantes qui ne se trouvent normalement pas ensemble. Bien que la grande majorité de ces mutations se produisent dans les protéines intracellulaires, la destruction des cellules tumorales par les cellules présentatrices d'antigènes donne l'occasion aux molécules du CMH (on parle d'antigène leucocytaire humain (HLA) chez l'homme) de présenter des portions de ces protéines intracellulaires anormales aux lymphocytes T, amorçant les lymphocytes T pour la destruction potentielle des cellules cancéreuses.

b) Le cycle d'immunité contre le cancer

Le processus d'une réponse immunitaire anticancéreuse aux cellules cancéreuses a été appelé le cycle d'immunité contre le cancer ou cycle cancer-immunité. Pour qu'une réponse immunitaire anticancéreuse conduise à une destruction efficace des cellules cancéreuses, il faut déclencher une série d'événements par étapes et les laisser se dérouler et s'étendre de manière répétée dans un cycle d'autopropagation. Ce cycle, connu sous le nom de cycle d'immunité contre le cancer, peut être divisé en sept étapes majeures, commençant par la libération d'antigènes par la cellule cancéreuse et se terminant par la destruction des cellules cancéreuses.

Les étapes qui composent le cycle d'immunité contre le cancer sont présentées dans la figure 1.

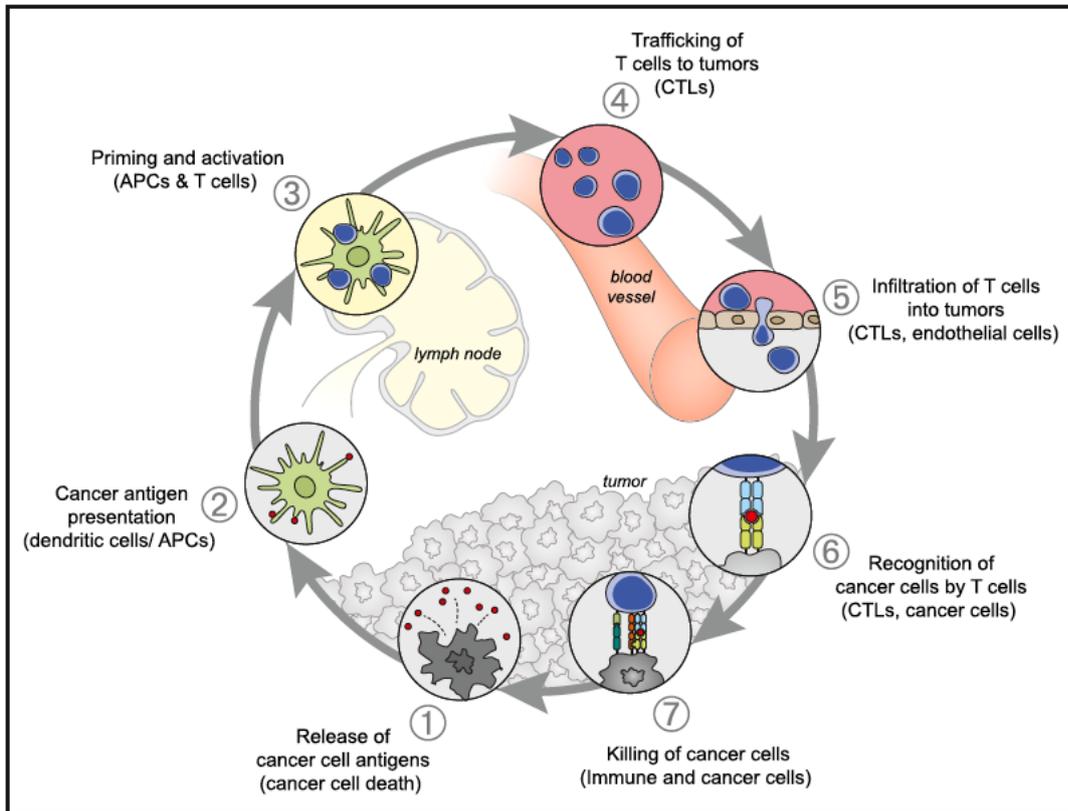


Figure 1. Le Cycle cancer-immunité, Chen, Daniel S, and Ira Mellman. "Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle." *Immunity* vol. 39,1 (2013)

Étape 1 : Libération

Dans la première étape, les antigènes spécifiques de la tumeur créés par l'oncogenèse sont libérés puis capturés par les cellules dendritiques pour être traités. Pour que cette étape produise une réponse des cellules T anticancéreuses, elle doit être accompagnée de signaux qui précisent la nécessité de l'immunité, sinon il peut en résulter une tolérance aux antigènes tumoraux. Ces signaux immunogènes peuvent inclure des cytokines pro-inflammatoires et des facteurs libérés par les cellules tumorales mourantes.

Étape 2 : Présentation

Après que les antigènes spécifiques de la tumeur capturés par les cellules dendritiques et d'autres cellules présentatrices d'antigènes ont été traités (décomposés en fragments plus petits), les antigènes sont ensuite présentés sur les molécules du CMH I et du CMH II aux lymphocytes T dans le ganglion lymphatique.

Étape 3 : Activation

La liaison du TCR à l'antigène-CMH entraîne l'amorçage et l'activation des réponses des cellules T contre les antigènes spécifiques du cancer qui sont considérés comme

étrangers. La nature de la réponse immunitaire est déterminée à ce stade, un équilibre critique représentant le rapport entre les cellules effectrices T (c'est-à-dire les cellules T cytotoxiques ou lymphocytes T CD8+ et les cellules TH ou lymphocytes T CD4+) et les cellules TReg (lymphocytes T régulateurs) étant la clé du résultat final. Nous notons par ailleurs que la reconnaissance des antigènes par les cellules T est limitée au CMH et que les cellules T CD4+ se lient au CMH II via leur TCR tandis que les cellules T CD8+ se lient au CMH I.

Étape 4 : Trafic

Les cellules T activées quittent le ganglion lymphatique et se dirigent vers la tumeur en entrant dans le système circulatoire, où elles sont préparées à identifier les antigènes spécifiques de la tumeur.

Étape 5 : Infiltration

Les lymphocytes T activés s'infiltrent dans le lit de la tumeur, à la recherche d'antigènes spécifiques de la tumeur.

Étape 6 : Reconnaissance

Une fois dans le lit de la tumeur, un lymphocyte T activé peut reconnaître spécifiquement les cellules cancéreuses et s'y lier grâce à l'interaction entre son TCR et l'antigène spécifique de la tumeur lié aux molécules du CMH à la surface de la cellule tumorale.

Étape 7 : Destruction

Les cellules T liées peuvent maintenant tuer leur cellule cancéreuse cible. La destruction de la cellule cancéreuse libère d'autres antigènes spécifiques de la tumeur (à nouveau l'étape 1), augmentant ainsi l'ampleur et la profondeur de la réponse lors des révolutions suivantes du cycle d'immunité contre le cancer.

C) Dysfonctionnement du cycle d'immunité contre le cancer chez les patients atteints de cancer

Bien que le système immunitaire soit capable de reconnaître et d'éliminer les cellules cancéreuses anormales qui apparaissent dans le corps humain, les tumeurs en développement peuvent répondre à ces réponses immunitaires en développant des moyens d'échapper à ces mécanismes. Parmi ces stratégies, nous nous

concentrerons ici sur la modification du microenvironnement tumoral pour inhiber l'activité des cellules T amorcées.

a) Modification du microenvironnement tumoral

Certaines voies oncogènes dans les tumeurs entraînent la production de facteurs qui modifient le microenvironnement tumoral de manière hostile aux réponses immunitaires antitumorales. Ces voies oncogéniques peuvent non seulement protéger la tumeur des réponses immunitaires antitumorales, mais aussi déplacer les réponses immunitaires vers celles qui soutiennent et favorisent la croissance de la tumeur. La production de molécules qui inhibent les réponses immunitaires et l'activation des points de contrôle immunitaires sont deux mécanismes clés de la modification du microenvironnement tumoral.

b) Molécules qui inhibent les réponses immunitaires

Le microenvironnement immunitaire d'une tumeur exprime de nombreuses molécules qui inhibent les réponses immunitaires. Par exemple, les tumeurs produisent des molécules qui augmentent l'accumulation de cellules suppressives dérivées des myéloïdes, qui agissent pour inhiber la fonction des cellules T spécifiques de la tumeur. Pour ce faire, les cellules suppressives dérivées de myéloïdes expriment un certain nombre de cytokines inhibitrices telles que le TGF-beta, ce qui permet une prolifération cellulaire incontrôlée et peut contribuer à l'invasion des tissus environnants par la tumeur.

En outre, certaines cellules du microenvironnement tumoral (par exemple, les cellules suppressives dérivées des myéloïdes, les cellules dendritiques) sont incitées par les tumeurs à exprimer un certain nombre d'enzymes dont l'activité métabolique aboutit finalement à l'inhibition des réponses des lymphocytes T dans le microenvironnement tumoral. Ces enzymes métaboliques consomment des nutriments essentiels à la fonction des cellules T cytotoxiques et produisent des produits inhibiteurs de l'activation des cellules T.

c) Activation des points de contrôle immunitaires

Comme nous venons de le voir, la force ultime de la réponse des lymphocytes T aux pathogènes étrangers, initiée par la reconnaissance de l'antigène par le TCR, est régulée par un équilibre entre les signaux co-stimulateurs et co-inhibiteurs¹² (figure 2). L'activation des cellules T naïves par les cellules présentatrices d'antigènes nécessite un second signal co-stimulateur en plus du signal conféré par la présentation de l'antigène par le CMH. Ces deux signaux permettent aux cellules T de proliférer, d'acquérir des fonctions cytotoxiques antitumorales et, finalement, de migrer vers les sites de la maladie pour tuer les cellules tumorales. L'activation des cellules T est étroitement régulée par un certain nombre de signaux inhibiteurs afin d'éviter des

réponses immunitaires prolongées qui peuvent potentiellement endommager les tissus normaux. Ensemble, ces signaux stimulants et inhibiteurs intrinsèques aux cellules T sont connus sous le nom de points de contrôle immunitaires, et c'est l'équilibre entre ces signaux qui permet de moduler correctement les réponses immunitaires.

Dans des conditions physiologiques normales, les points de contrôle immunitaires sont essentiels au maintien de l'autotolérance (c'est-à-dire à la prévention de l'auto-immunité) et protègent également les tissus des dommages lorsque le système immunitaire répond à une infection pathogène. Cependant, la fonction des points de contrôle immunitaires peut être dérégulée par les tumeurs, ce qui constitue un mécanisme important pour neutraliser les réponses immunitaires qui les "menacent".

Les points de contrôle immunitaires font généralement référence à des molécules liées à la membrane qui interagissent avec des récepteurs inhibiteurs sur les lymphocytes T. De nombreuses molécules de contrôle sont régulées à la hausse dans le microenvironnement tumoral, soit par les cellules tumorales elles-mêmes, soit par d'autres cellules du stroma tumoral. Comme les lymphocytes T activés expriment des récepteurs inhibiteurs qui reconnaissent les molécules inhibitrices, ils sont empêchés de médier des réponses antitumorales, même s'ils entrent dans la tumeur dans un état activé.

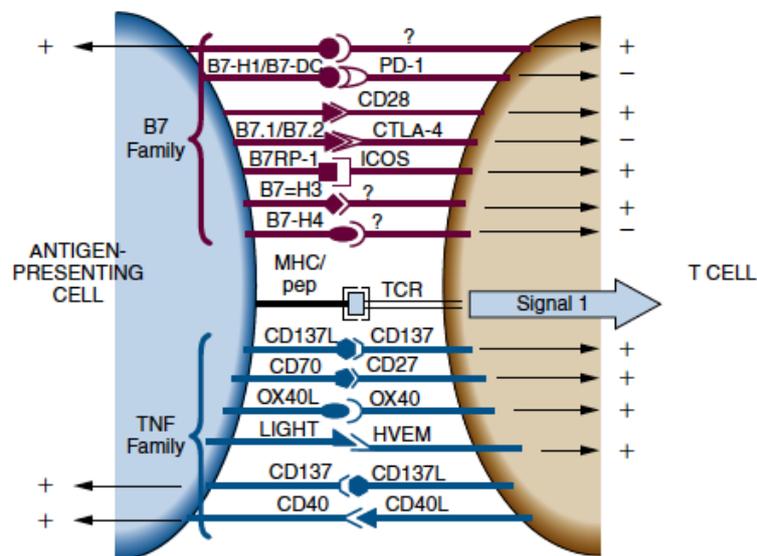


Figure 2 : Les points de contrôle immunitaire des cellules T, Pardoll, D. "Cancer Immunotherapy with Vaccines and Checkpoint Blockade", The Molecular Basis of Cancer. Elsevier, (2014).

D) Points de contrôle immunitaires

Il existe de nombreuses voies de contrôle immunitaire, bien que la plupart ne soient pas bien comprises. Cependant, deux voies de contrôle immunitaire ont été largement étudiées et représentent des cibles thérapeutiques importantes dans le cancer : le

point de contrôle de l'antigène 4 des lymphocytes T cytotoxiques (CTLA-4) et le point de contrôle de la mort cellulaire programmée 1 (PD-1) /ligand 1 de la mort cellulaire programmée (PD-L1).

a) Point de contrôle CTLA-4¹³

Le point de contrôle CTLA-4 est un régulateur global de l'activation des lymphocytes T. CTLA-4 est exprimé exclusivement sur les lymphocytes T, où il régule principalement l'ampleur des premiers stades de l'activation des lymphocytes T¹⁴. Les souris chez qui CTLA-4 est éliminé meurent dans les trois semaines de la destruction immunitaire de plusieurs organes, ce qui atteste du rôle critique de CTLA-4 en tant que régulateur inhibiteur des réponses immunitaires dépendantes des cellules T.

Le CTLA-4 s'oppose principalement à l'activité du récepteur costimulateur CD28 des lymphocytes T. Lorsqu'un TCR reconnaît les structures antigène-CMH à la surface des cellules présentant l'antigène, le CD28 à la surface des cellules T peut également se lier au CD80 et au CD86 sur les cellules présentant l'antigène. La co-stimulation de la signalisation du CD28 amplifie fortement le signal du TCR pour activer les cellules T.

Après l'activation des cellules T, les réserves intracellulaires de CTLA-4 migrent vers la surface cellulaire. CD28 et CTLA-4 partagent des ligands identiques - CD80 et CD86. Comme CTLA-4 a une affinité globale beaucoup plus élevée pour les deux ligands, son expression à la surface des cellules T freine l'activation des cellules T en surpassant CD28 dans la liaison avec CD80 et CD86, ainsi qu'en délivrant activement des signaux inhibiteurs à la cellule T, ce qui entraîne l'inactivation de la cellule T (figure 3).

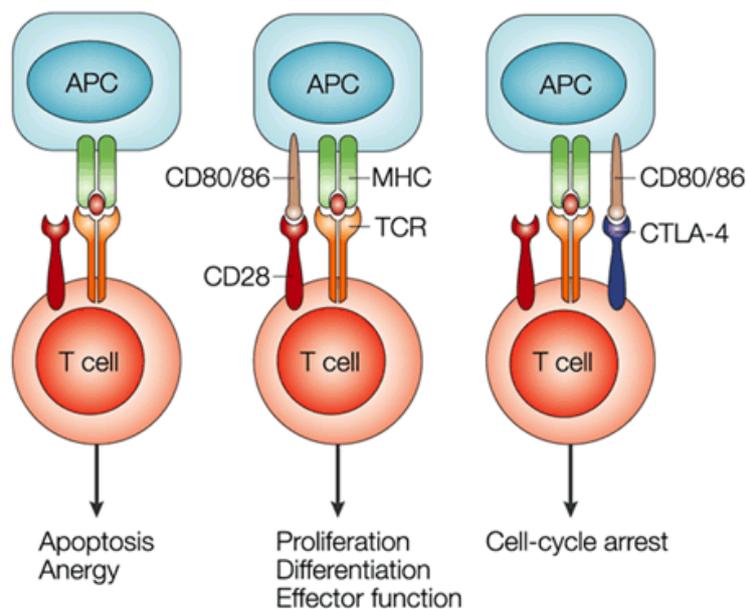


Figure 3 : Activation des cellules T dans le ganglion lymphatique, H. Pearce, « Understanding the mechanism of cure in testicular cancer », Nature Reviews Immunology (2014)

Même si CTLA-4 est exprimé par les lymphocytes T cytotoxiques CD8 activés, le rôle physiologique primaire de CTLA-4 semble opérer par le biais d'effets distincts sur les 2 principaux sous-ensembles de lymphocytes T CD4 : la modulation à la baisse de l'activité TH (stimulatrice) et le renforcement de l'activité suppressive TReg. Si l'activité de CTLA-4 est bloquée, il en résulte une large amélioration des réponses immunitaires dépendant des cellules TH.

b) Point de contrôle PD-1/PD-L1¹⁵¹⁶

PD-1 représente un autre récepteur important du point de contrôle immunitaire. Le rôle majeur de PD-1 est de limiter l'activité des cellules T dans les tissus périphériques au moment d'une réponse inflammatoire à une infection et de limiter l'auto-immunité. Cela se traduit par un mécanisme majeur de résistance immunitaire au sein du microenvironnement tumoral. De plus, PD-1 est plus largement exprimé que CTLA-4. Par exemple, il est exprimé sur d'autres sous-ensembles de cellules non T activées, notamment les cellules B et les cellules NK, où il limite l'activité d'élimination cellulaire de ces cellules.

L'expression de PD-1 est induite lorsque les cellules T sont activées. Lorsqu'il est engagé par l'un de ses ligands, PD-L1 ou PD-L2, PD-1 inhibe les molécules de signalisation impliquées dans l'activation des cellules T, réduisant ainsi l'activité de ces dernières.

PD-L1 est aussi bien exprimé dans les tissus lymphatiques que dans les tissus non lymphatiques. On retrouve notamment l'expression de PDL1 sur les cellules endothéliales et les cellules parenchymateuses. L'expression de PD-L1 dans les tissus périphériques, plutôt que sur les cellules présentatrices d'antigènes, est essentielle pour prévenir les dommages tissulaires induits par l'auto-immunité. L'expression de PD-L1 dans les cellules cibles permet à PD-1 d'inhiber directement l'activité effectrice des cellules T contre les cellules cibles. PD-L1 est exprimé dans de nombreux tissus, tandis que PD-L2 est exprimé uniquement par les cellules présentatrices d'antigènes telles que les cellules dendritiques et les macrophages¹⁷.

Il est important de noter que PD-1 est exprimé sur une grande proportion de lymphocytes CD4 infiltrant les tumeurs (LIT) provenant de nombreux types de tumeurs différents. Pour supprimer l'activité cytotoxique de ces cellules, on a constaté que de nombreuses tumeurs humaines différentes expriment les ligands PD-L1 et PD-L2. Sur les tumeurs solides, le principal ligand PD-1 exprimé est PD-L1. L'expression de PD-L1 sur les tumeurs inhibe les réponses locales des cellules T antitumorales et constitue un mécanisme clé par lequel les tumeurs peuvent échapper à la réponse immunitaire de l'organisme. Le blocage de la voie PD-1 permet d'améliorer la fonction des cellules T antitumorales dans le microenvironnement tumoral.

II) IMMUNOTHÉRAPIE DU CANCER

A) Introduction

Les traitements à base de médicaments anticancéreux sont généralement classés en quatre catégories différentes¹⁸ :

- La chimiothérapie, qui implique un large groupe de médicaments cytotoxiques qui interfèrent avec la division cellulaire et la synthèse de l'ADN.
- La thérapie ciblée, qui consiste en un nouveau groupe d'anticorps et d'inhibiteurs de tyrosine kinase à petites molécules qui ciblent spécifiquement les protéines impliquées dans les voies de signalisation de la croissance dans les cellules cancéreuses.
- L'hormonothérapie, qui implique des médicaments qui interfèrent avec la signalisation de la croissance par le biais des récepteurs hormonaux des cellules cancéreuses.
- L'immunothérapie, qui vise l'induction ou l'augmentation des réponses immunitaires anticancéreuses

En termes plus simples, l'immunothérapie est un traitement qui utilise le système immunitaire d'une personne pour combattre des maladies telles que le cancer. Cela peut se faire de différentes manières :

- En stimulant le système immunitaire existant pour qu'il attaque plus efficacement les cellules cancéreuses.
- En complétant le système immunitaire avec les composants nécessaires, tels que des cytokines artificielles ou des cellules T spécialement conçues.
- En empêchant les cellules cancéreuses d'amortir les réponses immunitaires.

Alors que certaines immunothérapies renforcent le système immunitaire de l'organisme de manière très générale, d'autres contribuent à augmenter ou à entraîner le système immunitaire pour qu'il attaque spécifiquement les cellules cancéreuses. D'autres types de traitements, parfois considérés comme des immunothérapies, utilisent des composants du système immunitaire, tels que les anticorps, pour exercer leurs effets.

Nous nous concentrerons ici sur les immunothérapies à base d'inhibiteurs de points de contrôle qui sont actuellement utilisées pour traiter le cancer.

B) Objectifs de l'immunothérapie du cancer¹⁹

La plupart des approches d'immunothérapie visent à exploiter la capacité exquise du système immunitaire adaptatif et à l'utiliser comme outil thérapeutique contre le cancer. Cette approche repose sur deux caractéristiques essentielles du système immunitaire adaptatif :

- Premièrement, la diversité des récepteurs du système immunitaire adaptatif (les TCR pour les lymphocytes T et les anticorps produits par les lymphocytes B) offre une capacité inégalée de spécificité de la cible, bien supérieure à celle de toute bibliothèque de médicaments synthétiques.
- Deuxièmement, les diverses armes de destruction cellulaire du système immunitaire adaptatif et sa capacité à recruter d'autres cellules du système immunitaire inné, si nécessaire, offrent la possibilité de tuer n'importe quelle cellule, une fois qu'elle est reconnue de manière appropriée.

Sur la base de ces concepts, l'objectif de l'immunothérapie du cancer est d'initier ou de réinitialiser un cycle auto-entretenu d'immunité contre le cancer, lui permettant de s'amplifier et de se propager, mais pas au point de générer des réponses inflammatoires auto-immunes incontrôlées, qui pourraient être à l'origine d'effets indésirables graves.

Une fois activé, le cycle d'immunité contre le cancer a le potentiel de s'autopropager. A chaque révolution du cycle d'immunité contre le cancer, non seulement une accumulation de facteurs de stimulation immunitaire peut se produire, renforçant la réponse immunitaire antitumorale en cours, mais elle peut également stimuler la génération de nouvelles réponses immunitaires antitumorales en favorisant la diffusion des antigènes.

Les nombreux facteurs qui entrent en jeu dans le cycle immunitaire du cancer offrent un large éventail de cibles thérapeutiques potentielles. La figure 4 présente des exemples de certaines des immunothérapies actuellement utilisées ou en cours d'étude pour le traitement du cancer, dont beaucoup seront abordées dans ce manuscrit.

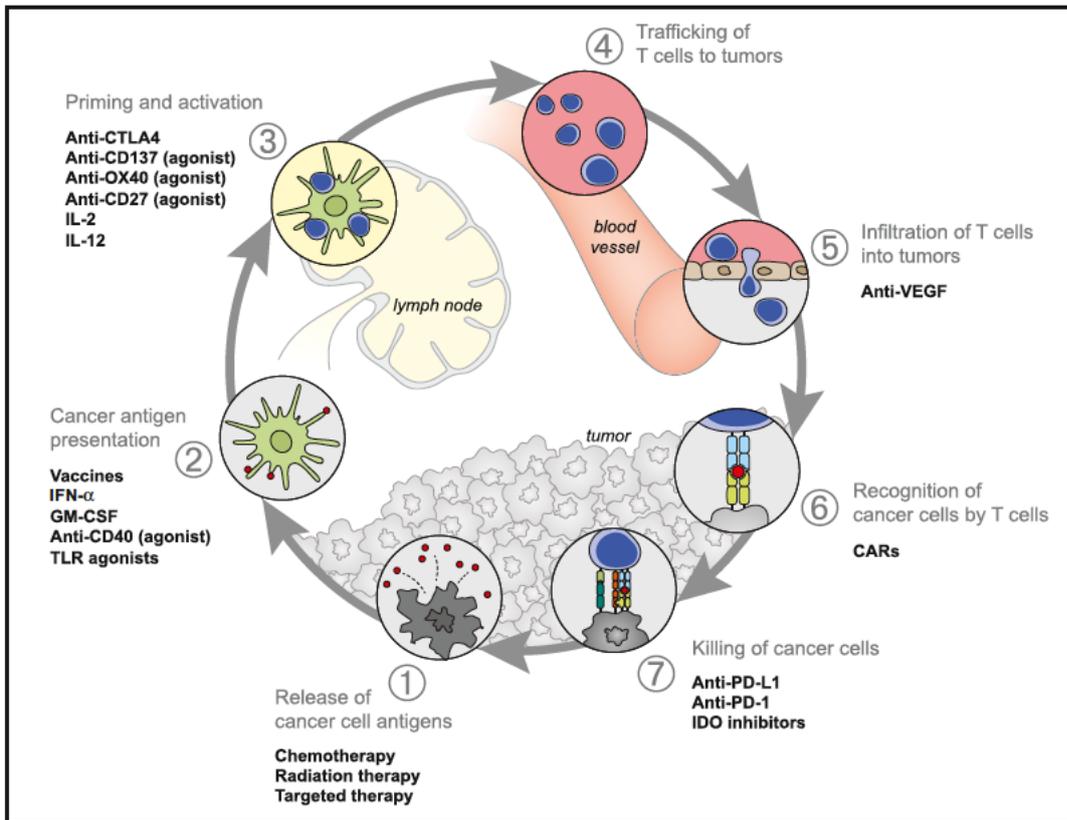


Figure 4 : Les thérapies susceptibles de modifier le cycle cancer-immunité, Chen, Daniel S, and Ira Mellman. "Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle." *Immunity* vol. 39,1 (2013)

C) Types d'immunothérapies du cancer

a) Les anticorps monoclonaux ciblant les points de contrôle immunitaires²⁰²¹

Les anticorps sont des composants du système immunitaire adaptatif produits par les cellules B qui aident à éliminer les agents pathogènes ou les antigènes. En exploitant cette compréhension du système immunitaire, les chercheurs ont appris à concevoir des anticorps qui ciblent spécifiquement un certain antigène, par exemple celui qui se trouve sur les cellules cancéreuses. De cette façon, les cellules malignes peuvent être rendues vulnérables aux traitements qui visent des antigènes uniques exprimés à leur surface. Au cours des dernières années, de nombreux anticorps monoclonaux ont été approuvés pour le traitement de certains cancers. Cependant, une utilisation émergente des anticorps monoclonaux est la création d'immunothérapies qui modulent les réponses du système immunitaire, plus particulièrement en ciblant les protéines de contrôle du système immunitaire.

Comme nous venons de le voir, une partie très importante du système immunitaire est sa capacité à s'empêcher d'attaquer d'autres cellules normales de l'organisme. Cela est possible grâce à l'utilisation des points de contrôle du système immunitaire, des molécules situées sur les cellules immunitaires qui s'activent pour amortir la réponse immunitaire. Les cellules cancéreuses développent parfois des moyens de coopter ces points de contrôle pour éviter d'être attaquées par le système immunitaire. Cependant,

les thérapies qui ciblent ces points de contrôle, comme les immunothérapies à base d'anticorps monoclonaux, sont très prometteuses pour le traitement du cancer.

b) Inhibiteurs du point de contrôle CTLA-4

Rappelons que CTLA-4 est une protéine qui se trouve à la surface des lymphocytes T. Les lymphocytes T sont activés. Dans les cellules T activées, CTLA-4 agit normalement comme une sorte d'"interrupteur" qui aide à contrôler l'activité des cellules T, empêchant l'expansion des réponses de ces cellules dans l'organisme. Malheureusement, cette action peut également empêcher les cellules T d'attaquer les cellules cancéreuses.

En raison des effets régulateurs négatifs de CTLA-4 sur les réponses des cellules T, on a émis l'hypothèse que le blocage de la signalisation de CTLA-4 pourrait augmenter l'efficacité des réponses immunitaires antitumorales. Des anticorps monoclonaux ont ensuite été développés pour se fixer à CTLA-4 sur les cellules T et l'empêcher de se lier à son ligand, CD80, sur les cellules présentatrices d'antigènes. Lorsque des anticorps anti-CTLA4 sont appliqués, l'expansion des réponses des cellules T n'est théoriquement plus inhibée après la présentation de l'antigène dans les organes lymphoïdes (ou en périphérie), ce qui favorise la production de cellules T activées, y compris de cellules T spécifiques de la tumeur. Cela stimule à son tour la réponse immunitaire adaptative contre les cellules cancéreuses dans l'organisme.

c) Inhibiteurs du point de contrôle PD-1/PD-L1

PD-1/PD-L1 est un autre système de point de contrôle clé qui opère dans les cellules T. L'expression de PD-1 est courante sur les cellules T activées qui agissent en périphérie des tissus enflammés et des tumeurs naissantes, où il aide à contrôler la réponse immunitaire lorsqu'il se lie à son ligand, PD-L1, qui est exprimé par de nombreux types différents de cellules non malignes.

Pour de nombreux cancers humains, le cycle d'immunité contre le cancer est intact jusqu'au moment où les cellules tumorales sont tuées par les lymphocytes T, ce qui est influencé par l'expression de PD-1 et de PD-L1. L'expression de PD-1 est une caractéristique des cellules T "épuisées" qui ont subi des niveaux élevés de stimulation ou une aide réduite des lymphocytes CD4+. Cet état d'épuisement, qui survient lors d'infections chroniques et de cancers, se caractérise par un dysfonctionnement des cellules T, entraînant un contrôle sous-optimal des infections et des tumeurs. En outre, de nombreux cancers humains acquièrent la capacité d'exprimer de grandes quantités de PD-L1 à leur surface, ce qui les aide à échapper à l'attaque immunitaire des cellules T activées portant le PD-1. Cependant, si l'interaction PD-L1-PD-1 est bloquée, les fonctions de destruction cellulaire des cellules T anticancéreuses peuvent être rapidement restaurées, ce qui entraîne l'attaque des cellules tumorales (figure 5).

Les anticorps monoclonaux qui ciblent PD-1 ou PD-L1 peuvent renforcer la réponse immunitaire contre le cancer et se sont révélés très prometteurs comme traitements

anticancéreux. Un certain nombre de ces agents sont actuellement approuvés pour une grande variété de cancers. Certains de ces agents ciblent PD-1 (pembrolizumab, nivolumab), tandis que d'autres ciblent PD-L1 (atezolizumab, avelumab, durvalumab).

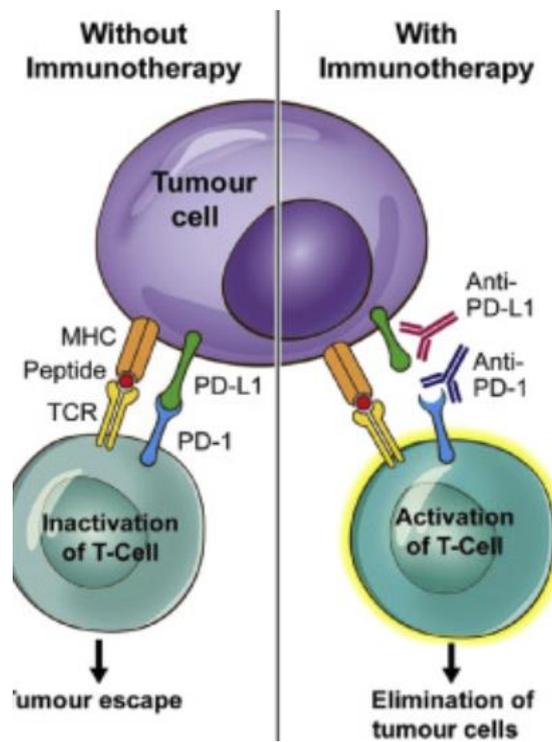


Figure 5 : Interactions ligand-récepteur entre les cellules tumorales et les cellules T activées et cibles des anti-PD-1, Soularue E, Lepage P, Colombel JF, et al Enterocolitis due to immune checkpoint inhibitors: a systematic review Gut 2018

III) REPONSE AUX INHIBITEURS DE POINTS DE CONTROLE

Les résultats de 4 inhibiteurs de points de contrôles lors de différents essais cliniques nous permettront de mieux comprendre les schémas de réponse et de résistance chez les patients recevant un Inhibiteur de Point de Contrôle (IPC). Le tableau ci-après résume les résultats des essais avec au moins un bras comparatif pour la monothérapie d'anti-PD-1 (pembrolizumab, nivolumab), d'anti-CTLA-4 (ipilimumab) ou d'anti-PD-L1 (atézolizumab). Ces quatre anticorps ont été sélectionnés sur la base des résultats d'essais portant sur plusieurs types de cancer et ont été administrés à 8 069 patients dans le cadre de 43 essais cliniques. Les critères d'inclusion de ces essais sont l'inscription de l'essai clinique dans la base de données ClinicalTrials.gov et la mesure du taux de réponse objective à l'aide de données cliniques ou radiographiques. Sur la base des résultats de ces essais, nous constatons que les agents ciblant la PD-1 ont globalement des taux de réponse plus élevés avec une toxicité moindre par rapport à l'anticorps anti-CTLA-4, l'ipilimumab. L'évaluation de l'efficacité du traitement et des effets indésirables liés au traitement (EILT) des anti-CTLA-4 par rapport aux anti-PD-1 est limitée par l'utilisation plus large de l'ipilimumab en combinaison avec d'autres agents qui ne sont pas inclus dans notre résumé. En se limitant aux 10 essais en monothérapie dans le mélanome, les réponses objectives étaient de 9,8-19,1 % contre 24,1-43,7 % pour les patients sous traitement anti-PD-1.²² D'autre part, il est intéressant de constater que si les résultats cliniques suggèrent globalement une efficacité significative des inhibiteurs de points de contrôle, il existe également une grande variabilité des réponses entre les différents types de tumeurs. En effet, les taux de réponse objective varient de 5% à 80% en fonction des cancers. Cela signifie que certaines tumeurs partagent des caractéristiques qui les rendent sensibles à l'action des inhibiteurs de points de contrôle et donc à l'immunité anti-tumorale. Nous étudierons ces caractéristiques ou biomarqueurs prédictifs des réponses aux inhibiteurs de points de contrôle. Nous pouvons émettre l'hypothèse que des mécanismes de résistance sont prédominants dans d'autres types de cancers et, agissant contre l'immunothérapie et l'immunité anti-tumorale, expliquent les résultats décevants observés ici.

Cancer	Agent IPC	Cible	Total	Taux de réponse objective	EILT 3+	Total 3+ EI
Melanome	Pembrolizumab	PD-1	1179	24.1–33.4%	5.9–14%	19–34%
	Nivolumab	PD-1	620	27.6–43.7%	11.7–16%	34–43.5%
	Ipilimumab	CTLA-4	723	9.8–19.05%	19.6–27%	33.2–55.6%
CPNPC	Pembrolizumab	PD-1	977	18.9–44.8%	9.49–26.6%	NC
	Nivolumab	PD-1	747	12.8–26.1%	10–18%	30.7–46%
	Atezolizumab	PD-L1	566	13.6–17%	12–14.8%	44.4–45%
CU (Carcinome urothélial)	Atezolizumab	PD-L1	675	13.4–26.3%	7–16%	12.6–54.4%
	Pembrolizumab	PD-1	266	21.1%	15%	52%
	Atezolizumab	PD-L1	566	13.6–17%	12–14.8%	44.4–45%
CR (carcinome rénal)	Nivolumab	PD-1	607	20.8–27.27%	11.3–18.7%	NC
LH (lymphome de Hodgkin)	Pembrolizumab	PD-1	241	65–69%	6.7–100%	21.4%
	Nivolumab	PD-1	103	66–87%*	31.3–43.5%	76.3–100%
Cancer Gastrique	Nivolumab	PD-1	268	11.2%	10%	41.5%
CETC	Pembrolizumab	PD-1	236	13.3%	13.1%	39.4%
CHC Carcinome hépatocellulaire	Nivolumab	PD-1	214	19.6%	25%	60.4%
Sarcome	Pembrolizumab	PD-1	80	5–18%	7.1–11.9%	54.8–59.5%
	Nivolumab	PD-1	38	5.3%	28.6%	NC
Tumeurs MSI-H	Pembrolizumab	PD-1	81	25–80%	20.24%	NC
Carcinome Thymique	Pembrolizumab	PD-1	40	22.5%	NC	77.5%
Carcinome Anal	Nivolumab	PD-1	35	24%	16%	NC
Cancer du Sein	Pembrolizumab	PD-1	27	18.5	15.6	NC
Carcinome de Merkel	Pembrolizumab	PD-1	26	56%	15%	42.3%
LLC	Pembrolizumab	PD-1	25	12%	60%	NC
Hémopathies malignes	Ipilimumab	CTLA-4	22	31.8%*	NC	86.4%
LBPM	Pembrolizumab	PD-1	17	41%	11%	NC

Figure 6 : Résumé d'essais cliniques utilisant le pembrolizumab, le nivolumab, l'atezolizumab et l'ipilimumab en tant que thérapies à agent unique. Borcherding, Nicholas et al. "Keeping Tumors in Check: A Mechanistic Review of Clinical Response and Resistance to Immune Checkpoint Blockade in Cancer." Journal of molecular biology vol. 430,14 (2018)

LLC = leucémie lymphoïde chronique

CETC = carcinome épidermoïde tête et cou

LBPM = lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B

EILT = Effets indésirables liés au traitement (3+ = de grade 3 et plus)

EI : Effets indésirables

Approche méthodologique

Nous venons de voir que l'organisme a une capacité naturelle à éliminer les tumeurs grâce au système immunitaire. Il agit par le biais d'une série d'événements qui constituent le cycle de l'immunité anti-tumorale. Chez les patients atteints de cancers, cette défense anti-tumorale peut être entravée par des mécanismes comme l'expression de points de contrôle immunitaires entraînant le dysfonctionnement du cycle cancer-immunité. L'immunothérapie, en bloquant ces points de contrôle en particulier, tente alors de réinitialiser un cycle auto-entretenu d'immunité contre le cancer, permettant à celui-ci de s'amplifier et de se propager. Seulement, bien que les études cliniques portant sur ces immunothérapies suggèrent une activité durable que peu de thérapies anticancéreuses peuvent approcher, nous venons de voir que cette activité ne s'étend pas à tous les patients ni à tous les types de cancers. Ainsi, nous considérerons dans ce manuscrit que si l'immunothérapie n'a pas toujours l'efficacité escomptée, c'est en raison d'un défaut de rétablissement de ce cycle dans certaines tumeurs et chez certains patients. Néanmoins, il existe des caractéristiques immunologiques, génétiques, épigénétiques et même microbiologiques qui nous aideront à prédire le bon déroulement de ce cycle et donc l'efficacité de l'immunothérapie.

Dans un premier temps, nous examinerons ces caractéristiques ou biomarqueurs de réponse à l'immunothérapie, qui feront l'objet d'un premier chapitre. Parallèlement, certains mécanismes empêchent la restauration durable du cycle cancer-immunité. Nous aborderons ces mécanismes de résistance dans un second chapitre. Tout comme les biomarqueurs de réponse, ces mécanismes peuvent intervenir à chaque étape du cycle cancer-immunité. Enfin, dans un troisième chapitre, nous aborderons les thérapies combinées qui permettront de contrer ces mécanismes de résistance, levant ainsi un second verrou aux différentes étapes du cycle cancer-immunité et permettant la restauration du cycle et la réponse à l'immunothérapie. Finalement, nous verrons que les caractéristiques mentionnées précédemment permettent de distinguer des phénotypes tumoraux qui font l'objet de classifications permettant d'orienter l'approche des combinaisons thérapeutiques.

Chapitre 1 : Biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaires

I) MARQUEURS PRÉDICTIFS INTERVENANT À L'ÉTAPE 1 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA LIBÉRATION DES ANTIGÈNES DU CANCER

A) Les néoantigènes et la charge de mutation

a) Les néoantigènes

La première étape du cycle d'immunité contre les tumeurs est la libération d'antigènes spécifiques produits par la tumeur. En plus d'affecter le comportement biologique des cellules tumorales, les mutations, les réarrangements génétiques, les insertions et les délétions peuvent entraîner une expression aberrante d'auto-antigènes associés aux tumeurs (antigènes TAA) ou de protéines à séquences modifiées (néoantigènes spécifiques des tumeurs) par rapport aux cellules somatiques normales²³.

Il convient de rappeler qu'un néoantigène est un antigène qui n'est pas normalement exprimé dans l'organisme (induit par la tumeur) alors qu'un autoantigène est un antigène du soi qui n'est pas normalement reconnu par le système immunitaire. Comme les cellules T reconnaissent les peptides transformés présentés par les molécules du CMH de l'hôte, une mutation cancéreuse peut produire un peptide néo-antigénique de cellule T par de multiples mécanismes. Il est important de préciser que des réponses des cellules T CD8+ spécifiques aux néoantigènes ont été observées parallèlement à la régression de la tumeur dans des modèles de sarcome chez la souris, vérifiant ainsi que la thérapie anti-PD-1 pouvait augmenter la réactivité des cellules T spécifiques des néoantigènes²⁴. On suppose donc que les tumeurs présentant de nombreux néoantigènes sont plus susceptibles de susciter des réponses des cellules T antitumorales et qu'il existe ainsi une corrélation avec l'activité clinique des inhibiteurs de points de contrôle.

À l'appui, il a été démontré que les anti-CTLA-4 et les anti-PD-1 améliorent à la fois la qualité et l'étendue des réponses des cellules T intratumorales spécifiques aux néoantigènes qui orchestrent le rejet de la tumeur²⁵. Cela a également été observé chez des patients atteints d'un mélanome de stade IV, où la réponse des cellules T aux mutations ATR (une protéine kinase essentielle au maintien de l'intégrité génomique) a été significativement améliorée par l'anti-CTLA-4, ce qui a entraîné une réponse clinique objective²⁶. D'autre part, des études ont montré que les patients cancéreux présentant des mutations dans les gènes TP53, KRAS ou BRCA-2 ont une meilleure réponse clinique au traitement anti-PD-1. À l'avenir, la réactivité des cellules T dans une tumeur individuelle pourrait être systématiquement analysée grâce aux progrès des technologies de séquençage, ce qui permettrait d'obtenir un profil personnalisé de néoantigènes spécifiques du patient, lequel deviendrait le biomarqueur prédictif par excellence pour la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle.

b) Le fardeau mutationnel tumoral (FMT)

Il est important de noter que l'antigénicité d'un néopeptide n'est pas liée à sa fonction ; une mutation passagère sans rôle fonctionnel peut être un antigène tumoral parfaitement valable²⁷. Cela suggère que les tumeurs ayant une charge mutationnelle plus importante (indépendamment la nature des mutations) pourraient posséder plus de néoantigènes, et donc que le patient pourrait posséder un plus grand répertoire de cellules T spécifiques aux tumeurs existantes et de plus grandes chances de répondre aux inhibiteurs de points de contrôle. On envisage alors le fardeau mutationnel tumoral (FMT), le nombre total de mutations par mégabase dans les régions codantes des cellules tumorales comme prédicteur de l'efficacité thérapeutique.

Venant soutenir cette hypothèse, il a été observé dans le CPNPC que les fumeurs, ayant une charge mutation beaucoup plus élevée que les non-fumeurs, ont également un taux de réponse plus élevé aux anti-PD1²⁸.

Entre autres, le mélanome, un cancer induit par des carcinogènes (notamment les rayonnements UV) et présentant l'une des charges mutationnelles les plus élevées parmi les tumeurs humaines, présente une réponse particulièrement élevée à la thérapie anti-PD1, et une corrélation entre la charge mutationnelle du mélanome et la réponse aux anti-CTLA4 a récemment été rapportée²⁹.

Enfin, dans une analyse complète des données cumulées de 1 638 patients présentant différents types de tumeurs, il a été constaté qu'un FMT élevé était un facteur prédictif indépendant de la réponse clinique à l'immunothérapie anti-PD-1/PD-L1. En effet, les taux de réponse des patients cancéreux ayant un FMT élevé et faible étaient respectivement de 58% et 20% et la survie sans aggravation (PFS) était de 12,8 mois pour les patients présentant un FMT élevé contre 3,3 mois pour patients présentant un FMT faible³⁰. D'autres études ont confirmé la corrélation du FMT avec l'amélioration des réponses au blocage des points de contrôle et une amélioration de la survie globale dans d'autres types de tumeurs, comme le carcinome urothélial³¹ ou cancer de la tête et du cou³².

c) Limite de la corrélation entre le FMT et la réponse aux Inhibiteurs de points de contrôle

Étant donné que toutes les mutations ne seront pas traduites en néo-antigène, le FMT peut avoir une certaine valeur de référence, mais restera un biomarqueur imparfait des réponses cliniques aux inhibiteurs de points de contrôle. En effet, la charge mutationnelle des tumeurs est un corrélât imparfait de la réponse au blocage des points de contrôle, car la distribution de la charge mutationnelle entre les répondeurs et les non-répondeurs se chevauche considérablement³³.

Ainsi, aucun seuil numérique clair de la charge de mutation n'a pu être défini qui justifierait l'exclusion des patients de la thérapie. Par ailleurs, la charge de mutation tumorale n'est pas corrélée avec la réponse dans d'autres types de tumeurs, notamment le lymphome de Hodgkin³⁴ ou le carcinome des cellules rénales³⁵.

Prise ensemble, ces études confortent tout de même la notion selon laquelle les mutations peuvent accroître l'antigénicité des tumeurs, fournissant la base d'une plus grande probabilité de réponse au blocage des points de contrôle immunitaire.

B) Les cancers déficients en complexe MMR de l'ADN / Instabilité des microsatellites : la génétique du cancer rencontre l'immunothérapie

Nous nous concentrerons ici sur un autre mécanisme qui pourrait être responsable de l'augmentation de l'antigénicité tumorale et être corrélé à la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle.

En effet, un sous-groupe génétique spécifique associé à de multiples cancers et provoquant une très forte augmentation des mutations tumorales (FMT) a récemment été étudié dans le cadre de la réponse aux traitements anti-PD1 et anti-CTLA4. Ce sous-groupe est défini par des défauts dans un ou plusieurs des six gènes codant pour des composants du complexe majeur de réparation de l'ADN, le complexe MMR. Les cellules normales reposent sur ce système de réparation des anomalies de l'ADN pour rectifier les erreurs liées à la réplication de l'ADN. En revanche, dans de nombreuses cellules cancéreuses, le MMR est défectueux, ce qui entraîne des erreurs de réplication de l'ADN non corrigées et de nombreuses mutations, notamment de petites insertions et délétions dans des séquences répétées appelées microsatellites. Ces modifications génomiques entraînent souvent des mutations qui produisent des néoantigènes immunogènes reconnus et ciblés par les lymphocytes T³⁶. Les cellules ayant cette accumulation de séquences génétiques erronées (microsatellites) présentent un phénotype de microsatellite à forte instabilité (MSI-H).

On a constaté que ces gènes étaient mutés, supprimés ou inactivés dans un certain nombre de cancers, tels que les cancers colorectaux, gastriques, duodénaux, de l'endomètre et même de la prostate. Globalement, environ 4 % des tumeurs solides de l'adulte aux États-Unis présentent un génotype déficient en MMR. Il est important de noter que les cancers déficients en MMR ont une charge de mutation 10 à 100 fois plus élevée que leurs homologues non déficients. On a donc émis l'hypothèse selon laquelle la déficience en MMR, qui entraîne une augmentation aussi importante de la charge mutationnelle, serait une caractéristique déterminante de l'immunité antitumorale.

La capacité du phénotype MSI à prédire la réponse clinique aux anti-PD1 a été testée dans le cadre d'une étude clinique à trois bras sur le pembrolizumab³⁷. Un groupe était composé de patients atteints de cancer colorectal avec des tumeurs MSI. Un deuxième était composé de patients atteints de cancer colorectal avec des tumeurs MSS (stables). Le troisième groupe était composé de patients non atteints de cancer colorectal mais présentant des tumeurs MSI. Cette étude a montré que les cancers colorectaux MSI avaient un taux de réponse objectif d'environ 60 %, tandis que les

patients atteints de tumeurs MSS ne répondaient pas au traitement. Un taux de réponse d'environ 60 % a également été observé avec les tumeurs MSI dans le groupe de patients atteints d'autres types de cancers. Ce groupe comprenait des patientes atteintes de cancers ampullaires, du duodénum et de l'endomètre qui étaient réfractaires à la chimiothérapie.

Par la suite, ces résultats ont été confortés un essai clinique prolongé au cours duquel il a évalué de manière prospective des patients atteints de différents sous-types de cancers déficients en RMM traités par l'anti-PD-1³⁸.

Sur la base de ces résultats, la FDA a approuvé le pembrolizumab (anti-PD-1) pour le traitement des patients atteints de tumeurs solides inopérables ou métastatiques présentant un phénotype MMR-déficient ou MSI-H, quel que soit le type de tumeur. Par ailleurs, deux autres inhibiteurs de points de contrôle, le nivolumab (anti-PD-1) et l'ipilimumab (anti CTLA4) ont également été approuvés pour le traitement des patients atteints de tumeurs déficientes en MMR ou MSI-H. Le déficit en MMR et le phénotype MSI-H sont donc susceptibles d'être les biomarqueurs prédictifs les plus efficaces de la réponse clinique aux inhibiteurs de points de contrôle.

Il est important de noter que les modèles statistiques prenant en compte les altérations dans la réponse aux dommages de l'ADN ont mieux prédit la survie que les modèles prenant en compte la charge mutationnelle, ce qui suggère que les changements dans la réponse aux dommages de l'ADN peuvent avoir un impact plus important sur la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaire que la charge mutationnelle.

Pris ensemble, nous concluons que la présence de néoantigènes, la charge de mutation et la présence d'instabilité microsatellitaire, au bénéfice de l'immunité antitumorale, sont de bons marqueurs prédictifs de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle.

II) MARQUEURS PRÉDICTIFS INTERVENANT AUX ÉTAPES 2 ET 3 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE SUIVIE DE L'AMORÇAGE ET DE L'ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T

A) L'état fonctionnel des cellules immunitaires

La seconde et troisième étape du cycle de l'immunité antitumorale consiste en la présentation des antigènes aux lymphocytes T et à l'activation de ces derniers. L'état fonctionnel des cellules immunitaires et leur capacité à combattre les tumeurs dépendent alors en partie des cytokines qui jouent un rôle important dans leur différenciation, leur maturation et leur migration. La détection des cytokines est alors supposée être prédictive de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle. Les interférons et autres cytokines sont impliqués dans la mort ou l'inhibition des cellules tumorales. L'une des molécules effectrices essentielles dans l'immunité antitumorale est l'IFN-gamma. Des travaux réalisés à l'aide d'anticorps bloquant l'IFN-gamma ou de modèles de souris dépourvus de molécules de signalisation essentielles de l'IFN-gamma ont démontré le rôle essentiel de la signalisation de l'IFN-gamma dans l'immunosurveillance. Comme le montre le schéma ci-dessous (Figure 7), l'IFN-gamma, libéré par les cellules T activées lors de la reconnaissance des néoantigènes, se lie à ses récepteurs sur les tumeurs (IFNGR1 et IFNGR2). Cette liaison mobilise et active les kinases Janus JAK1 et JAK2, ce qui entraîne la phosphorylation, la dimérisation et l'activation du transducteur et activateur du signal de transcription 1 (STAT1). Celui-ci se transloque alors dans le noyau, régule la transcription de gènes, notamment IRF1 (le facteur 1 de régulation de l'interféron), ce qui induit une augmentation de l'expression de PD-L1 et des molécules du CMH et l'activation des cellules immunitaires. L'IFN-gamma stimule alors la présentation des antigènes, augmente la production de cellules T cytotoxiques et on lui a même attribué un rôle dans la fragilité des cellules T régulatrices qui inhibent les lymphocytes³⁹.

Nous ferons donc l'hypothèse que la fonction de l'IFN-gamma et son rôle dans l'immunité cellulaire le rendent essentiel pour les réponses à la thérapie anti-PD-1 et qu'une augmentation de l'IFN-gamma peut améliorer l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle.

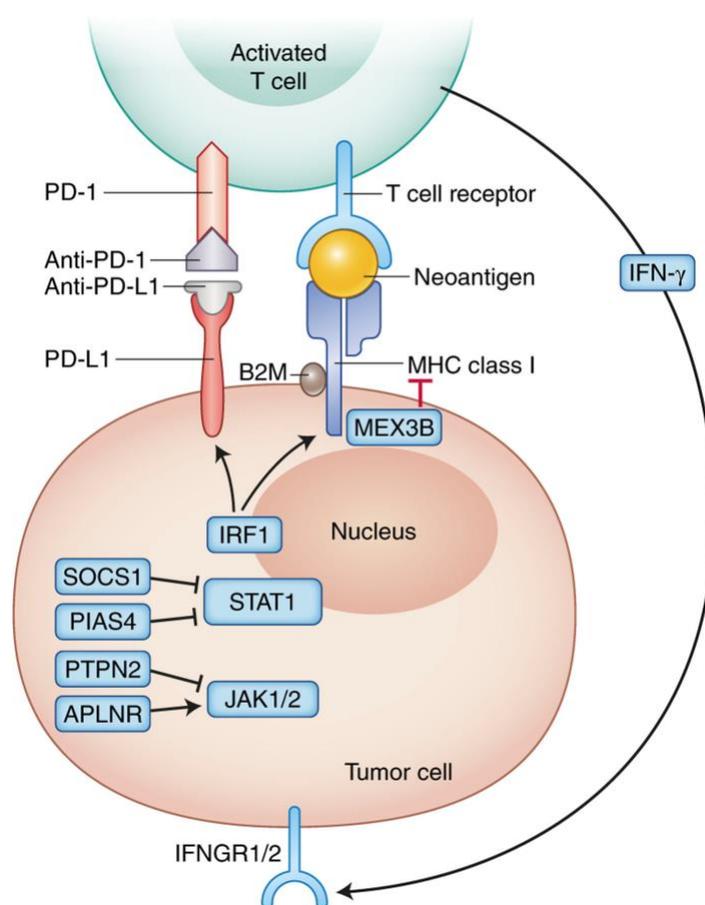


Figure 7 : Présentation de l'antigène et de la réaction génomique au blocage des points de contrôle immunitaire, Keenan TE, Burke KP, Van Allen EM. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade. Nature Medicine. 2019

En soutien à cette hypothèse, il a été démontré que des niveaux élevés d'IFN-gamma améliorent la réponse à la thérapie anti-PD-1 dans le cancer du poumon non à petites cellules⁴⁰. D'autre part, des essais cliniques récents menés chez des patients atteints de carcinome épidermoïde de la tête et du cou, de mélanome et de cancer gastrique ont montré que les profils d'expression génétique comprenant les gènes de signature de l'IFN-gamma, distinguent les patients qui répondent avec succès au traitement anti-PD-1 de ceux qui n'y répondent pas⁴¹. De même, l'augmentation de l'expression des gènes associés à la présentation de l'antigène et à la voie IFN-gamma est un marqueur précoce de la réponse des tumeurs au traitement anti-PD-1 après in progression antérieure traitement anti-CTLA-4 dans mélanome. Enfin, chez des patients atteints de mélanome et présentant une faible réponse aux anti-PD-1, des mutations de perte de fonction dans JAK1 et JAK2 ont été signalées⁴².

Dans l'ensemble, ces résultats montrent que la voie de signalisation IFN-gamma joue un rôle important dans la détermination de l'efficacité thérapeutique des inhibiteurs de points de contrôle, ce qui positionne l'activation de cette voie de signalisation comme un biomarqueur prédictif potentiel de la réponse clinique aux inhibiteurs de points de contrôle.

III) MARQUEURS PREDICTIFS INTERVENANT AUX ETAPES 4 ET 5 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTITUMORAL : LE TRAFIC ET L'INFILTRATION DES CELLULES T ACTIVEES.

A) L'infiltration de cellules immunitaires dans le microenvironnement tumoral

Le recrutement des cellules T activées sur les sites des tumeurs à l'étape 4 et 5 du cycle de l'immunité antitumorale est nécessaire à la destruction des cellules tumorales. Ainsi, nous supposons que l'efficacité de l'immunothérapie peut être prédite par le degré d'infiltration des cellules immunitaires, qui est déterminé par deux facteurs importants :

- les chimiokines, telles que CCL25 se liant à son récepteur CCR9, et CXCL9, CXCL10 et CXCL11 se liant à CXCR3, associées à la migration des LcT vers les sites tumoraux et
- l'entrée par les vaisseaux sanguins de la tumeur.

Une densité élevée de lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL), résultant d'une réponse immunitaire active et attribuée à un phénotype d'inflammation immunitaire, pourrait être un biomarqueur prédictif et pronostique. Les lymphocytes infiltrant les tumeurs diffèrent des cellules immunitaires du sang périphérique à la fois par l'expression de leurs molécules de surface, par leurs sous-types, et par la distribution et la densité des populations de cellules T CD4+ et CD8+.

Dans l'étude KEYNOTE-001, la densité initiale des lymphocytes infiltrant les tumeurs a été évaluée quantitativement afin de déterminer sa relation avec l'efficacité du pembrolizumab. Les résultats ont montré que le nombre initial de cellules T CD8+ était plus élevé chez les sujets ayant répondu au traitement que chez les non-répondants⁴³. D'autre part, une étude de phase 2 portant sur l'ipilimumab dans le mélanome métastatique a montré une augmentation de la densité des lymphocytes infiltrant la tumeur dans les biopsies de tumeurs après une seconde série de traitement. Cette augmentation a été positivement corrélée avec la réponse clinique⁴⁴.

De même, les patients atteints d'un cancer gastrique EBV-positif (infectés par le virus d'Epstein-Barr) qui présentaient des preuves plus solides d'infiltration immunitaire ont répondu à l'avelumab (anti-PD-L1). Pour finir, dans le cancer gastrique et le cancer colorectal avec métastases, une forte densité de cellules T CD8+ infiltrées est associée à une survie globale (OS) prolongée⁴⁵.

Nous concluons que le degré d'infiltration des cellules immunitaires dans la tumeur et l'augmentation des cellules T locales constituent globalement un bon marqueur prédictif des thérapies par inhibiteurs de points de contrôle.

B) Les modifications épigénétiques

Nous venons de voir que des altérations d'ordre génétique telles que les mutations, une déficience en MMR ou la perte de gènes de signalisation de l'IFN-gamma sont corrélées à la sensibilité des tumeurs aux inhibiteurs de points de contrôle. Ici, nous voulons montrer que les modulations épigénétiques, telles que la méthylation de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des histones, pourraient également être impliquées dans l'infiltration et la fonctionnalité des cellules T et jouer un rôle dans les effets thérapeutiques des inhibiteurs de points de contrôle.

En effet, l'état de méthylation de l'ADN dans les cellules T épuisées jouerait un rôle majeur dans la restauration fonctionnelle des cellules T induite par les inhibiteurs de points de contrôle.

Les cellules T CD8+ infiltrant la tumeur semblent présenter deux états chromatinien différents : un état dysfonctionnel dans lequel la fonction des cellules T peut être restaurée, et un état dysfonctionnel fixe dans lequel la fonction des cellules T ne peut être restaurée⁴⁶. L'état de la chromatine est étroitement contrôlé par des "writers", des enzymes qui apportent des modifications épigénétiques, comme les DNMT et EZH2 (ADN méthyltransférases et histone méthyltransférases), et des "erasers", des enzymes qui suppriment les altérations épigénétiques, comme les HDAC (histone désacétylases).

En général, la méthylation des résidus cytosine de l'ADN est associée à l'état fermé de l'hétérochromatine et à la suppression de la transcription, tandis que l'acétylation des résidus lysine des histones est associée à l'état ouvert de l'euchromatine et à la transcription active des gènes. Dans le cas de la méthylation des histones, c'est le degré de méthylation, c'est-à-dire la monométhylation, la di- ou la triméthylation qui détermine l'état fermé ou ouvert de la chromatine. Le plus souvent, la monométhylation des histones active la transcription, tandis que la triméthylation entraîne la suppression de la transcription. Une sous-expression des DNMT entraîne donc l'exposition de signaux immunogènes cachés dans les cellules tumorales, ce qui renforce l'immunogénicité et donc la signalisation immunitaire dans les cellules tumorales.

EZH2 est un autre régulateur épigénétique connu pour ses fonctions immunomodulatrices : il inhibe l'activité des cellules NK, maintient la stabilité des cellules T régulatrices, inhibe la production de cytokines TH1 (cytokines pro inflammatoires favorisant l'élimination des cellules tumorales) et induit l'épuisement des cellules T.

L'expression d'EZH2 dans les cellules cancéreuses du colon a inhibé épigénétiquement la production des chimiokines CXCL9 et CXCL10, empêchant ainsi l'infiltration des cellules T dans le lit de la tumeur⁴⁷. Un effet similaire a été observé dans le cancer ovarien⁴⁸. Dans les cellules T régulatrices, EZH2 conserve son activité immunosuppressive et empêche les cellules T CD4+ et CD8+ d'infiltrer la tumeur⁴⁹. Ainsi, une forte immunité anti-tumorale est induite par l'appauvrissement génétique d'EZH2 dans les cellules T régulatrices.

Le troisième groupe de régulateurs épigénétiques sont les histone désacétylases (HDAC). En effet, en l'absence d'HDAC, les gènes de présentation de la PD-L1 et de l'antigène des leucocytes humains (HLA) de classe I/II sont régulés à la hausse ce qui améliore l'activité anti-tumorale et le pronostic de l'immunothérapie⁵⁰.

Pour conclure, les modulations épigénétiques telles que la méthylation de l'ADN ou la méthylation et l'acétylation des histones peuvent représenter des biomarqueurs potentiels de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle étant donné leurs effets immunomodulateurs.

C) La flore microbienne intestinale affecte la fonction immunitaire de l'hôte

De récents travaux en immunologie soutiennent l'hypothèse selon laquelle les bactéries commensales ne sont pas seulement des partenaires symbiotiques vivant dans notre corps, mais participent également à la lutte active contre le cancer et contribuent à l'immunosurveillance antitumorale. Il apparaît que le microbiote influence la fonction des cellules dendritiques, la migration et l'infiltration des cellules T dans les sites tumoraux, ainsi que la stabilité des cellules T régulatrices, et peut donc être envisagé comme un marqueur de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle.

Le lien entre le microbiote et les inhibiteurs de points de contrôle a été mis en évidence pour la première fois dans une étude montrant que le microbiote intestinal et l'immunité des muqueuses pouvaient être perturbés par une déficience en PD-1 agissant sur un axe important de l'immunité survenant dans le centre germinatif des plaques de Peyer dans l'intestin⁵¹. Cet axe fait notamment intervenir les lymphocytes T auxiliaires folliculaires (LcT helper) et les plasmocytes sécréteurs d'IgA.

La preuve directe du rôle du microbiote dans l'effet thérapeutique des inhibiteurs de points de contrôle a été apportée par une étude préclinique montrant que le transfert fécal de *Bifidobacterium* renforçait l'effet thérapeutique de l'anti-PD-L1 en améliorant la fonction des cellules dendritiques, puis l'amorçage et l'accumulation des cellules T CD8+ dans le microenvironnement tumoral. Il est intéressant de noter que, contrairement à l'anti-PD-L1, l'anti-CTLA-4 nécessite des espèces de *Bacteroides*

plutôt que de *Bifidobacterium* pour obtenir un effet thérapeutique. En effet, le transfert adoptif de cellules T spécifiques de *Bacteroides fragilis* ont rétabli l'efficacité anti-cancéreuse du traitement anti-CTLA-4 dans des modèles de souris traités préalablement par antibiotiques.

Sur la base de ces données précliniques, ces mêmes observations ont été confirmées chez l'homme où l'effet thérapeutique des inhibiteurs de points de contrôle dépend de bactéries commensales spécifiques. Des échantillons de microbiome oral et fécal ont été collectés de manière prospective dans le cadre d'une étude clinique de patients atteints de mélanome traités par un anticorps PD-1. On a alors trouvé davantage de *Ruminococcaceae* et de *Faecalibacterium* dans l'organisme des patients ayant répondu au traitement. En plus du mélanome, une association entre le microbiome et la réponse clinique aux médicaments anti-PD-1 a également été observée chez des patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules, de carcinome urothélial avancé et de carcinome colorectal traités par des anti-PD-1/PD-L1⁵². Plus précisément, il a été observé spécifiquement que la supplémentation d'*A. muciniphila* dans le microbiote fécal de non-répondants pouvait rétablir l'efficacité du blocage de la PD-1 au point de presque supprimer la croissance tumorale en augmentant le recrutement et l'infiltration de cellules T CD4+ via CCR9 et CXCR3 dans le lit de la tumeur⁵³.

Dans l'ensemble, les profils initiaux de bactéries commensales *Bacteroides fragilis* ou *Bacteroides thetaiotaomicron* peuvent aider à prédire la réponse clinique aux anti-CTLA-4, les bactéries *Bifidobacterium* celles des anti-PD-L1, et les profils *Bifidobacterium longum* + *Collinsella aerofaciens* + *Enterococcus faecium*, *Ruminococcaceae* + *Faecalibacterium*, ou *Akkermansia muciniphila* la réponse aux anti-PD-1⁵⁴.

Il est important de noter que le microbiome intestinal régule la réponse aux traitements par inhibiteurs de points de contrôle, mais que l'expression des points de contrôle influence également le microbiome intestinal. L'identification de taxons microbiens gastro-intestinaux pouvant prédire la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle devrait faire l'objet de recherches futures, tout comme l'utilisation de la transplantation fécale comme thérapie d'appoint.

IV) MARQUEURS PREDICTIFS INTERVENANT LORS DES 2 DERNIERES ETAPES DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA RECONNAISSANCE ET L'ELIMINATION DES CELLULES CANCEREUSES

A) L'expression de PD-1/ PD-L1

La liaison de PD-L1 à son récepteur PD-1 conduit souvent à une fuite immunitaire de la tumeur. L'inhibition de la suppression immunitaire médiée par la voie PD-1 est le principe de base de la thérapie anti-PD-1/PD-L1. En plus de l'expression physiologique de PDL1 sur les cellules saines pour diminuer les réponses immunitaires continues de l'hôte dans les tissus périphériques, les cellules tumorales et les cellules stromales associées peuvent également exprimer ce point de contrôle, ce qui désactive les cellules T effectrices. Nous supposons donc ici que l'expression de PD-L1 est un facteur de mauvais pronostic pour la réponse aux immunothérapies.

En comparant les infiltrats immunitaires des mélanomes PDL1+ et PDL1-, les mélanomes PDL1+ ont révélé une signature cytokinique Th1 caractérisée par l'expression de l'interféron gamma⁵⁵. Les mélanomes PDL1+ étant associés à une surexpression de PD1. De manière surprenante, l'expression de PDL1 dans les tumeurs des patients atteints de mélanome était généralement associée à une meilleure survie globale, contrairement aux attentes basées sur sa fonction immunosuppressive connue.

Ce paradoxe s'explique par un mécanisme selon lequel les cellules T cytotoxiques infiltrant la tumeur régulent à la hausse l'expression de PD1 et libèrent de l'IFN-gamma lorsqu'elles rencontrent des antigènes tumoraux. L'IFN-gamma déclenche alors une réponse adaptative dans les cellules tumorales et les cellules immunitaires infiltrantes voisines, qui régulent à leur tour PDL1 à la hausse. Cette induction de PDL1 dans le microenvironnement tumoral crée un "bouclier" contre l'attaque des cellules T effectrices PD1+ activées. Dans ce contexte, l'expression de PDL1 peut donc être considérée comme un marqueur d'une réponse immunitaire active de l'hôte (microenvironnement tumoral immunologiquement actif), qui est une condition préalable à des réponses antitumorales efficaces induites par une thérapie anti-PD-1.

Ce modèle d'expression adaptatif de PDL1 a également été décrit dans d'autres types de tumeurs, comme le carcinome à cellules de Merkel, le cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC), le cancer du sein, l'angiosarcome et le carcinome urothélial métastatique⁵⁶. Dans chaque cas, l'expression de PDL1 associée à des cellules immunitaires infiltrant la tumeur s'est avérée être un facteur pronostique positif. L'expression de PD-L1 sur les cellules T périphériques a également été positivement associée à la survie globale et à la survie sans progression chez les patients atteints de mélanome métastatique traités par ipilimumab (anti-CTLA-4)⁵⁷.

Cependant, PD-L1 a l'effet inverse lorsqu'il dépasse un certain seuil ; une surexpression de PD-L1 dans le cancer du poumon réduit l'efficacité des anti-PD-1⁵⁸. Il a ensuite été constaté que les patients présentant une expression modérée de PD-L1 répondaient le mieux au traitement anti-PD-1 dans le mélanome⁵⁹.

Chez les patients atteints de carcinome pulmonaire non à petites cellules métastatique, les PD-L1+ sont répondeurs mieux aux inhibiteurs de points de contrôle et des effets secondaires moins prononcés ont été observés, ce qui a conduit à l'approbation par la FDA du pembrolizumab (anti-PD-1) dans cette indication⁶⁰. Il convient de noter que dans la plupart de ces études, les tumeurs PD-L1- répondaient aux inhibiteurs de points de contrôle, bien que dans une moindre mesure, ce qui suggère que l'expression de PD-L1 dans les cellules tumorales n'est pas un biomarqueur définitif.

B) Limite de l'expression de PD-L1 comme marqueur prédictif

Nous avons pu observer une certaine disparité dans les résultats lors de l'étude de l'expression de PD-L1 en tant que marqueur prédictif. Pour concilier ces résultats divergents, quatre facteurs peuvent être pris en compte :

1. L'expression de la PD-L1 est hétérogène d'un patient à l'autre et au sein des tumeurs. Par conséquent, l'échantillonnage d'un site tumoral à un moment donné ne refléterait pas avec précision le profil d'expression PD-1/PD-L1 du patient.
2. La détection de l'expression quantitative de PD-L1 fait principalement appel à des méthodes d'immunohistochimie qui impliquent des anticorps et des plateformes de coloration. Ainsi, la précision des niveaux de PD-L1 dépend fortement de la fiabilité et de la sensibilité des anticorps de détection.
3. Les critères d'évaluation et les seuils de positivité de PD-L1 utilisés dans les tests d'immunohistochimie varient, certains ne prenant en compte que les cellules tumorales, tandis que d'autres notent à la fois les cellules tumorales et les cellules immunitaires.
4. Les différents mécanismes de régulation positive de PD-L1 : intrinsèquement, l'expression de PD-L1 peut être modulée par des facteurs de transcription ; extrinsèquement, l'IFN-gamma induit l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales.

Compte tenu de ces facteurs et des résultats contradictoires, nous retiendrons que l'expression de PD-L1 sur les cellules cancéreuses est un biomarqueur inductible et dynamique, qui reflète une plus grande probabilité de réponse plutôt qu'un prédicteur

définitif de la réponse clinique aux inhibiteurs de points de contrôle. L'expression de PD-L1 seule peut ne pas être suffisante pour évaluer l'efficacité du traitement anti-PD-1/PD-L1.

A travers l'étude de l'expression de PD-1/PD-L1 en tant que biomarqueur prédictif de réponse à l'immunothérapie, nous venons d'aborder un premier mécanisme de résistance immunitaire adaptative médiée par l'interféron gamma. Dans le chapitre suivant, nous passerons en revue les mécanismes de résistance immunitaire qui nuisent à l'immunité antitumorale et donc à l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle.

Chapitre 2 : Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de points de contrôle

I) INTRODUCTION

Le blocage pharmacologique de la PD-L1 ou de la PD-1 est à la pointe de l'immunothérapie pour divers cancers, car il facilite des réponses immunitaires anti tumorales efficaces en réactivant des cellules T préalablement épuisées. Cependant, jusqu'à la moitié des patients atteints de tumeurs positives à la PD-L1 présentent une résistance primaire ou une rechute après le blocage de la PD-1/PD-L1, on parle alors de résistance acquise⁶¹. Des résultats similaires ont été observés avec les thérapies anti-CTLA-4 et peuvent également s'expliquer par des mécanismes qui interfèrent avec la fonction des inhibiteurs de points de contrôle et le déroulement le cycle de l'immunité contre le cancer. Les mécanismes de résistance primaire, acquise et adaptative sont tous impliqués dans la réponse hétérogène au blocage des points de contrôle immunitaire. Les patients présentant une résistance primaire aux inhibiteurs de points de contrôle ne répondent pas au traitement initial en raison, par exemple, d'un manque de reconnaissance par les cellules T dû à l'absence d'antigènes tumoraux ou d'un manque de chimiotaxie des cellules T dans le microenvironnement tumoral expliqué par un manque d'expression de CXCL9, 10 et 11.

Il existe deux catégories de processus à l'origine de la résistance acquise aux thérapies anticancéreuses : les processus à l'origine de changements au niveau de la population et les processus qui se produisent au niveau des cellules cancéreuses individuelles⁶².

La résistance acquise au niveau de la population signifie qu'une sous-population de cellules intrinsèquement "adaptées" est sélectionnée à la suite d'un traitement anticancéreux donné, tandis que les cellules moins adaptées sont tuées par le traitement. Cette population de cellules était déjà présente dans la population initiale avant le traitement, mais elle possédait les caractéristiques appropriées pour survivre au traitement et, en raison de la pression de sélection exercée par le traitement anticancéreux, cette population de cellules a survécu, s'est développée et a remplacé la population initiale.

L'adaptation cellulaire, également appelée "résistance homéostatique", implique, en réponse au traitement anticancéreux, l'engagement de cascades de signalisation intracellulaires et de modifications transcriptionnelles.

Plusieurs marqueurs tumoraux extrinsèques et intrinsèques ont été proposés pour prédire la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle. Ces marqueurs sont associés à différents processus, tels que la reconnaissance, l'activation, la différenciation et la chimiotaxie, qui sont essentiels à la fonction immunitaire des lymphocytes T. La perturbation d'un ou de plusieurs de ces processus entraîne un dysfonctionnement des lymphocytes T et un échappement de la tumeur du système immunitaire.

II) MECANISMES DE RESISTANCE INTERVENANT A L'ETAPE 1 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA LIBERATION DES ANTIGÈNES

A) La modification des antigènes spécifiques des tumeurs

Nous avons vu dans le chapitre précédent que l'antigénicité des tumeurs peut servir de marqueur prédictif de la réponse à l'immunothérapie car les tumeurs en développement induisent des réponses immunitaires en générant des antigènes spécifiques de la tumeur qui sont reconnus par les lymphocytes T. Les mécanismes de résistance que nous allons évoquer ici agissent contre l'immunité antitumorale en diminuant l'antigénicité de la tumeur et en empêchant ainsi l'action des lymphocytes T.

En effet, les tumeurs peuvent développer des moyens de contrôler le degré d'activation du système immunitaire qu'elles provoquent en éliminant les mutations qui donnent naissance aux antigènes spécifiques de la tumeur qui sont normalement présentés efficacement par les molécules du CMH tumoral⁶³.

L'analyse du génome de tumeurs a permis de rechercher l'inactivation de gènes impliqués dans la stimulation antigénique du système immunitaire ou encore la perte d'antigènes dans le complexe HLA. Dans les régions codantes pour les néoantigènes qui peuvent être présentés au système immunitaire via le complexe HLA, une augmentation des délétions chromosomiques a été observée. Des délétions hétérozygotes affectant les gènes codant pour les protéines du complexe HLA et d'autres protéines impliquées dans la présentation des antigènes caractérisent également ces tumeurs, diminuant ainsi la capacité des cellules immunocompétentes à présenter les néoantigènes. Par exemple la régulation négative ou la perte d'expression du CMH de classe I (HLA-A, HLA-B- HLA-C) apparaissant dans jusqu'à 90 % des tumeurs.

A l'appui, des modifications du transcriptome (ensemble des transcriptions d'ARNm produites) des cellules tumorales ont été observées dans des tumeurs pour lesquelles il existe une sélection négative de certains néoantigènes⁶⁴. Certaines tumeurs expriment en effet moins de transcrits codant pour des néoantigènes qui peuvent être présentés au système immunitaire via le complexe HLA que de transcrits codant pour des néoantigènes qui échappent au système immunitaire. Il semble donc exister une immunosélection des néoantigènes dès l'étape de transcription des gènes correspondants. Nous reviendrons sur ces mécanismes au fil du chapitre.

III) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 2 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTITUMORAL : PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE ET CO-STIMULATION

A) La tolérance induite par les cellules dendritiques

Nous avons vu que l'état fonctionnel des lymphocytes T était primordial dans la réponse immunitaire contre les tumeurs et un marqueur prédictif de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle. Or, les tumeurs utilisent des mécanismes d'induction de la tolérance pour désactiver les lymphocytes T spécifiques des antigènes associés à la tumeur par les cellules dendritiques à l'étape 2 du cycle immunitaire antitumoral, ce qui nuit à l'efficacité des immunothérapies.

L'un de ces mécanismes fait intervenir l'état immature ou inactif des cellules dendritiques infiltrant la tumeur. Les cellules dendritiques sont les principales cellules présentatrices d'antigènes qui présentent les antigènes étrangers aux cellules T pour initier des réponses immunitaires adaptatives. Dans le contexte d'une infection, les protéines microbiennes ou d'autres "signaux de danger" associés à la destruction des tissus activent les cellules dendritiques jusqu'à un état mature dans lequel elles présentent des antigènes aux lymphocytes T avec des signaux de costimulation qui induisent l'activation des lymphocytes T et le développement de fonctions cytotoxiques. Cependant, en l'absence de produits microbiens ou de signaux de danger, les cellules dendritiques restent dans un état immature dans lequel elles peuvent encore présenter des antigènes aux cellules T mais sans signaux costimulateurs. Lorsque cela se produit, ces cellules dendritiques immatures fonctionnent comme des cellules dendritiques "tolérantes", créant un état dans lequel les cellules T spécifiques de l'antigène ne répondent pas en présence de l'antigène. Ce processus, appelé anergie, est un mécanisme important qui conduit à l'autotolérance. La présentation régulière d'auto-antigènes par les cellules dendritiques immatures aux cellules T entraîne essentiellement le système immunitaire à ne pas attaquer les cellules et les tissus de l'organisme. Les tumeurs peuvent coopter le processus d'anergie en produisant des facteurs qui empêchent les cellules dendritiques locales de s'activer en réponse aux signaux de danger associés à l'invasion des tissus, faisant passer les cellules T spécifiques de la tumeur d'un état d'activation à un état de tolérance spécifique de la tumeur.

Des cellules dendritiques tolérogènes contribuant à la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle ont été observées dans de nombreux types de tumeurs.

IV) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 3 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : AMORÇAGE ET ACTIVATION DES CELLULES T NAÏVES

A) Les troubles de l'activation des lymphocytes T

D'autres mécanismes intrinsèques à la tumeur pouvant conférer une résistance à l'immunothérapie ont été décrits. Parmi ceux-ci, la régulation à la hausse d'autres inhibiteurs de points de contrôle lorsqu'une thérapie avec un anticorps est utilisée, entraînant une résistance adaptative.

Il a été découvert qu'après avoir bloqué PD-1/PD-L1, l'expression de TIM-3, un autre point de contrôle immunitaire, est régulée à la hausse. Cette expression entrave l'activation des cellules T via l'inhibition de la phosphorylation de l'AKT/S6 entraînant une diminution de la réponse à l'immunothérapie⁶⁵. De même, Le TNF, essentiel pour l'expression de TIM-3 dans les lymphocytes infiltrant les tumeurs, voit son expression régulée à la hausse après le blocage de PD-1⁶⁶. Dans une étude portant sur des modèles de cancer du poumon murins traités avec un inhibiteur de PD-1, TIM-3 a vu son expression régulée à la hausse dans les lymphocytes T CD4 et CD8 infiltrant la tumeur après progression du traitement anti-PD-1⁶⁷.

Le traitement anti-PD-1 dans le mélanome augmente également le point de contrôle immunitaire inhibiteur VISTA, qui inhibe de manière synergique l'activation des cellules T avec PD-L1. Dans le cancer colorectal, son expression est même plus élevée que celle de la PD-L1⁶⁸. De même, il a été observé dans le cancer de la prostate et le mélanome que les tumeurs qui régulaient initialement CTLA-4 à la hausse augmentaient plutôt VISTA après l'initiation d'un traitement anti-CTLA-4, ce qui fournit une voie nouvelle et distincte pour l'inhibition des cellules T.

Tel que nous l'avons évoqué précédemment, des modifications de gènes spécifiques peuvent également provoquer des troubles de l'activation des cellules T. PTEN régule négativement la voie PI3K/AKT, inhibant l'expression des facteurs immunosuppresseurs IL-10, IL-16, du VEGF et régule à la baisse l'expression de PD-L1. Ainsi, la délétion de PTEN favorise l'activation de la voie PI3K/AKT via la phosphorylation de l'AKT. Il en résulte une expression accrue de PD-L1 inactivant les cellules T, une réduction de l'infiltration des lymphocytes T et une augmentation des cellules immunitaires suppressives, y compris les cellules suppressives dérivées de la myéloïde et les cellules T régulatrices⁶⁹. Cela entraîne une résistance à la thérapie anti-PD-1.

Plus de 30 % des mélanomes sont associés à une perte de PTEN. Celle-ci est due à des mécanismes tels que des mutations et des délétions génétiques, des pertes d'hétérozygotie, des pertes de chromatine ou encore des modifications épigénétiques

conduisant à une inhibition de la transcription⁷⁰. L'absence d'expression de la protéine PTEN dans les tumeurs de patients atteints de mélanome métastatique avant le traitement anti PD-1 est donc associée à la résistance au traitement et à la croissance tumorale.

Corroborant ces résultats, dans un cas exceptionnel de réponse au blocage du point de contrôle PD-1 dans un léiomyosarcome métastatique, il a été constaté que la seule lésion métastatique qui n'a pas répondu au traitement présentait une délétion de la protéine PTEN⁷¹.

Nous concluons que l'expression de nouveaux points de contrôle immunitaires tels que TIM 3 et VISTA après le blocage de PD-1/PD-L1, ou l'absence d'expression de PTEN, compromettent l'état fonctionnel des cellules T qui est essentiel pour la réponse antitumorale et contribuent largement à la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle.

V) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 4 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LE TRAFFIC DES LYMPHOCYTES T ACTIVES

A) La tolérance induite par les cellules T régulatrices

Les lymphocytes T CD4 régulateurs sont apparus comme un acteur central dans le maintien de l'état de tolérance ainsi que dans la régulation négative générale des réponses immunitaires aux agents pathogènes. Il n'est pas surprenant qu'ils semblent également jouer un rôle dans la tolérance aux antigènes tumoraux, ainsi que dans la résistance des tumeurs à l'élimination à médiation immunitaire. De nombreuses études ont démontré que les lymphocytes T régulateurs se développent chez les animaux atteints de cancer et limitent considérablement la puissance des réponses immunitaires antitumorales. Les cellules T régulatrices limitent la fonction effectrice des cellules T CD8+ cytotoxiques par de multiples mécanismes, notamment la sécrétion de cytokines immunosuppressives (par exemple TGF- β , IL-10, IL-35), la consommation d'IL-2 et la régulation ascendante de CTLA-4⁷². A l'appui, il a été observé que la déplétion de Tregs améliore la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle dans des modèles murins et semble même être un déterminant majeur de l'efficacité du blocage de CTLA-4 chez les patients atteints de mélanome⁷³.

B) Les cellules suppressives dérivées de myéloïdes :

Les cellules suppressives dérivées de myéloïdes (MDSC) sont un groupe hétérogène de cellules myéloïdes immatures qui sont également capables de favoriser la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle en entravant l'action des lymphocytes T cytotoxiques par la sécrétion de facteurs solubles⁷⁴. En effet, les MDSC activés produisent de l'oxyde nitrique et régulent l'expression de l'arginase-1, ce qui entraîne une diminution de la L-arginine dans le microenvironnement tumoral et un arrêt du cycle cellulaire des lymphocytes T⁷⁵. Ainsi, l'oxyde nitrique et les espèces réactives de l'oxygène produites par les MDSC peuvent provoquer l'apoptose des cellules T. Par ailleurs, l'interaction de la PD-L1 sur les MDSC avec la PD-1 sur les cellules T entraîne l'épuisement des cellules T. Les MDSC peuvent également induire une expansion des lymphocytes T régulateurs, entravant l'activité anti-tumorale des lymphocytes T effecteurs. De même, il existe des preuves solides montrant que les MDSC sont l'un des principaux moteurs d'un microenvironnement immunosuppresseur⁷⁶. La présence d'un stroma tumoral immunosuppresseur, en particulier dans certaines tumeurs solides, rend difficile l'infiltration des lymphocytes T, ce qui limite l'efficacité du blocage de la PD-1 lors de la thérapie. Ainsi, Les MDSC sont en corrélation négative avec l'infiltration des lymphocytes T CD4+ et CD8+ et constituent un facteur important dans la diminution de l'infiltration des lymphocytes T⁷⁷. Des études cliniques corrélatives

suggèrent que les MDSC sont associés à des résultats cliniques négatifs chez les patients atteints de mélanome⁷⁸ et que des niveaux de circulation bas de MDSC ont une signification pronostique positive aux traitements anti-CTLA-4 et anti-PD-1⁷⁹.

Nous venons de voir que des mécanismes impliquant les cellules T régulatrices et les MSDC nuisent à la fonction effectrice des cellules T dans la tumeur mais aussi plus globalement à l'immunité antitumorale et entraînent ainsi une résistance aux inhibiteurs de point de contrôle.

VI) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 5 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : INFILTRATION DES LYMPHOCYTES T ACTIVES

A) Diminution de l'infiltration des cellules T

Nous avons vu au chapitre 1 que la présence de cellules T effectrices dans le microenvironnement tumoral, témoin d'un environnement immunitaire intratumoral actif, est un biomarqueur prédictif de la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle. Nous émettrons donc l'hypothèse que les mécanismes prévenant l'infiltration des cellules T dans la tumeur contribuent à la résistance à l'immunothérapie.

Les tumeurs se caractérisent par une régulation à la hausse de l'IL-6 et, via une expression accrue de l'IL-17A, du CXCL1 et du G-CSF (le facteur de stimulation des colonies de granulocytes). L'IL-6 favorise la prolifération tumorale. Le G-CSF augmente le nombre de polynucléaires neutrophiles (les cellules tueuses de lignée granulocytaire jouant un rôle important dans l'immunité innée et la réponse inflammatoire) associés à la tumeur et diminue le nombre de lymphocytes T CD8+ et CD4+ dans le microenvironnement tumoral (Figure 8). Ainsi, il a été observé que le tissu tumoral contenant de l'IL-17A est beaucoup moins sensible aux anticorps anti-PD-1 dans les échantillons cliniques⁸⁰.

L'absence de PTEN est également liée à un phénomène de résistance à l'immunothérapie impliquant la diminution de l'infiltration des lymphocytes T. En effet, la déficience en PTEN augmente l'expression du VEGF ; l'augmentation du VEGF favorise une angiogenèse tumorale anormale, réduisant ainsi la perfusion vasculaire et créant un environnement hypoxique qui inhibe l'infiltration des cellules T (Figure 8). La déficience en PTEN peut donc réduire l'infiltration des cellules T CD8+ via la régulation du VEGF, ce qui entraîne une résistance aux thérapies par inhibiteurs de points de contrôle.⁸¹

Étant donné que la voie de signalisation IFN-gamma, située en aval de JAK1 et JAK2, contrôle l'expression de chimiokines qui attirent les cellules T, telles que CXCL9, CXCL10 et CXCL11, les mutations de perte de fonction dans JAK1 et JAK2 peut entraîner la perte de la signalisation de l'interféron gamma, ce qui se traduit par un manque d'infiltration des cellules T. La présence de lymphocytes T dans le microenvironnement tumoral étant essentielle pour les thérapies par inhibiteurs de points de contrôle, les altérations de JAK1/JAK2 peuvent entraîner un manque de réponse⁸².

D'autre part, les tumeurs expriment largement CXCR4 (le récepteur des chimiokines de type 4) et son ligand CXCL12, qui sont impliqués dans la prolifération, la migration,

la survie des cellules cancéreuses⁸³. Dans les sites où CXCL12 est fortement exprimé, CXCR4 stimule les métastases tumorales. Il a été démontré que CXCL12, dans un modèle d'adénocarcinome pancréatique, épuise les cellules T et les empêche de participer à l'activité antitumorale, induisant ainsi une résistance aux inhibiteurs de points de contrôle⁸⁴.

Enfin, la régulation à la hausse de la voie de signalisation WNT/beta-caténine (impliquée dans la différenciation des cellules souches cancéreuses) dans les modèles de mélanome a été associée à une diminution du recrutement des lymphocytes T infiltrant la tumeur⁸⁵. En particulier, l'activation de cette voie réduit les niveaux de CCL4, une cytokine qui recrute les cellules dendritiques, ce qui altère l'amorçage et l'activation des lymphocytes T et entraîne une perte de la réponse immunitaire.

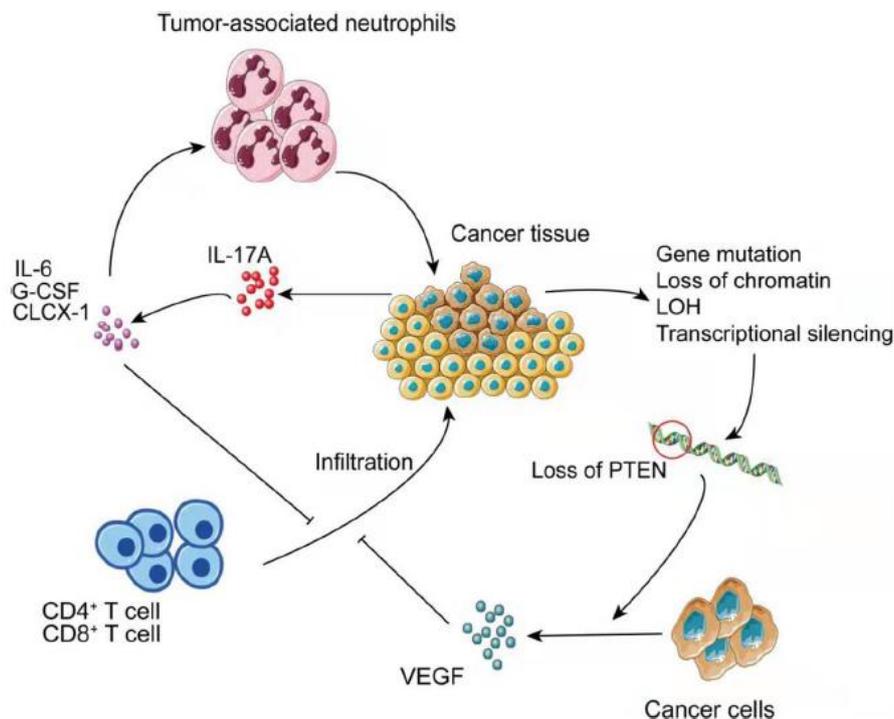


Figure 8 : La réduction de l'infiltration des cellules T entraîne une résistance aux médicaments. Dans les tissus tumoraux, la régulation positive de l'IL17A entraîne une hausse de l'IL6, du G-CSF et du CLCX1, favorisant ainsi la migration des neutrophiles dans les tissus associés à la tumeur, ce qui entrave l'infiltration des cellules T dans le microenvironnement tumoral. La perte de PTEN entraîne également une diminution de l'infiltration des lymphocytes T dans la tumeur en régulant à la hausse l'expression du VEGF, ce qui donne lieu à une angiogenèse anormale conduisant à une perfusion altérée. De Ren, Daixi et al. "Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy." Molecular cancer vol. 19,1 19. 30 Jan. 2020.

VII) MECANISMES DE RESISTANCE INTERVENANT À L'ÉTAPE 6 DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA RECONNAISSANCE DES CELLULES CANCEREUSES PAR LES LYMPHOCYTES T

A) Perte de présentation des antigènes

L'efficacité des traitements par inhibiteurs de points de contrôle repose sur la présence de lymphocytes T spécifiques des antigènes tumoraux dans le tissu de la tumeur. Par conséquent, les tumeurs doivent exprimer des antigènes qui se distinguent des tissus non transformés. Comme nous l'avons vu au début de ce chapitre, l'absence de néoantigènes tumoraux empêche les lymphocytes T de reconnaître les cellules tumorales, ce qui peut contribuer à l'échec du traitement par les inhibiteurs de points de contrôle.

La perte de composants impliqués dans le système de présentation des antigènes, tels que la B2M (bêta-2-microglobuline) et le HLA est un autre mécanisme permettant d'éviter le traitement de l'antigène et sa présentation par les tumeurs. B2M est essentiel pour l'assemblage de tous les complexes HLA de classe I et pour la présentation des peptides tumoraux aux cellules T via le CMH. Des mutations variées, notamment la perte d'hétérozygotie, peuvent entraîner un manque de B2M spécifique à la tumeur⁸⁶.

Les anomalies de la B2M ont été corrélées à la résistance au traitement par inhibiteurs de points de contrôle dans les contextes préclinique et clinique. Dans une cohorte longitudinale de 17 patients atteints de mélanome traités par inhibiteurs de points de contrôle avec une progression ultérieure, des mutations délétères de B2M ont été trouvées chez 2 patients présentant une résistance intrinsèque ainsi que dans des lésions progressives chez 3 patients présentant une réponse initiale au traitement⁸⁷. Les biopsies de deux cohortes indépendantes de 110 et 38 patients ont ensuite été examinées pour valider ces résultats, et environ 30 % des patients présentant une maladie progressive résistante aux médicaments présentaient des défauts de la B2M, contre 10 % des patients ayant répondu au traitement, et les mutations B2M dans les deux copies du gène ont été observées uniquement chez les non-répondants. Dans une autre étude, le remplacement de B2M a permis de restaurer les capacités de traitement des antigènes des cellules, ainsi que la reconnaissance de la tumeur par les cellules T, dans cinq lignées cellulaires de mélanomes métastatiques avec perte fonctionnelle de l'expression de B2M⁸⁸.

La perte de gènes du système HLA entraînant la perte de la présentation des peptides via le CMH-I est associée à la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle observée dans le mélanome. Cela a également été confirmé dans le cancer du poumon non à

petites cellules. En effet, dans une étude portant sur 14 cancers du poumon résistants à l'immunothérapie, la perte de B2M et la perte concomitante de l'expression du CMH-I ont été constatées chez un patient résistant, et la régulation négative de B2M a également été constatée dans deux autres tumeurs résistantes. Une validation fonctionnelle ultérieure a montré que l'inactivation du gène B2M par génie génétique dans un modèle de cancer du poumon de souris immunocompétent entraînait une résistance *in vivo* au blocage de PD-1⁸⁹.

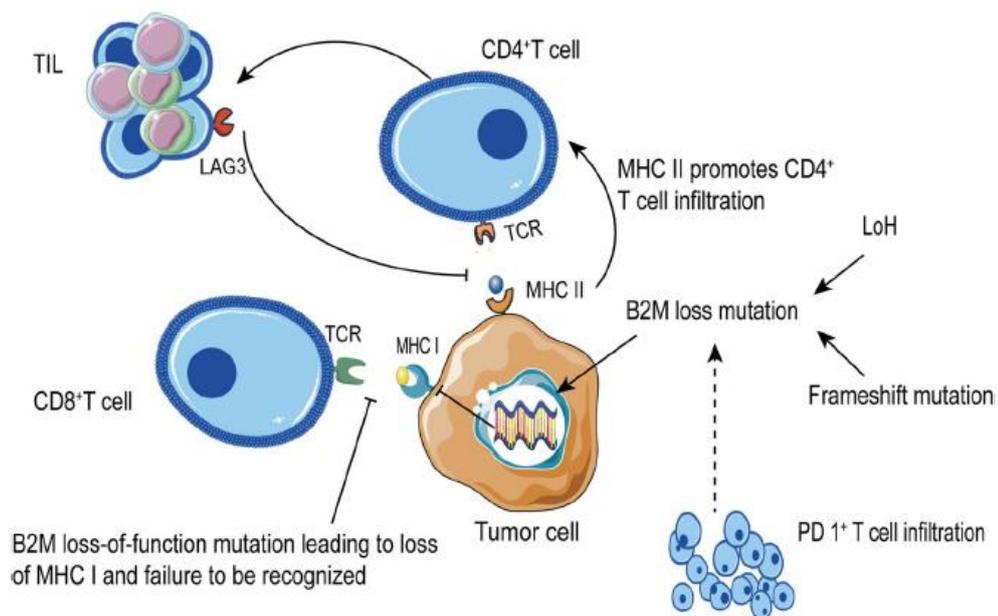


Figure 9 : Les altérations de B2M perturbent la présentation, la reconnaissance des antigènes tumoraux et l'infiltration des cellules T PD-1+, ce qui entraîne une résistance aux inhibiteurs de points de contrôle, de Ren, Daixi et al. "Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy." Molecular cancer vol. 19,1 19. 30 Jan. 2020.

Malgré le niveau limité de preuves disponibles à ce jour, le caractère indispensable de la B2M dans la présentation de l'antigène via le CMH de classe I fait de la perte la bêta-2-microglobuline (B2M) et de composants du HLA une voie intéressante pour la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle qui mérite d'être étudiée davantage.

VIII) MÉCANISMES DE RÉSISTANCE INTERVENANT À LA DERNIÈRE ÉTAPE DU CYCLE IMMUNITAIRE ANTI-TUMORAL : LA DESTRUCTION DES CELLULES CANCÉREUSES PAR LES LYMPHOCYTES T

A) Environnement tumoral immunosuppresseur

Un environnement tumoral immunitaire actif permettant une réponse immunitaire active est un biomarqueur de la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle et conduit à la destruction des cellules tumorales par les lymphocytes T. Les mécanismes que nous allons aborder ci-dessous favorisent un environnement tumoral immunosuppresseur et contribuent donc à la résistance aux points de contrôle.

Le TGF-beta, sécrété notamment par les lymphocytes T régulateurs et les cellules suppressives dérivées de myéloïdes participe à l'immunosuppression et est à l'origine d'une prolifération cellulaire incontrôlée et peut contribuer à l'invasion des tissus environnants par la tumeur. Cela inhibe la réponse immunitaire anti-tumorale, favorise l'échappement des cellules tumorales et concourt ainsi à la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle.

La surexpression de CD38 après le blocage de PD-1/PD-L1 est un autre mécanisme pouvant contribuer à la résistance au traitement anti-PD-1/PD-L1. En effet, le blocage de PD-1/PD-L1 entraîne une reprogrammation génétique adaptative qui se traduit par la libération d'acide all-transrétinoïque (ATRA) dans le microenvironnement tumoral, ce qui induit une régulation positive de CD38 à la surface des cellules T. Le CD38 va inhiber la fonction des cellules T via la signalisation des récepteurs de l'adénosine (Figure 10)⁹⁰. L'adénosine étant une substance immunosuppressive puissante, elle inhibe la fonction immunitaire des lymphocytes T effecteurs par la sécrétion de cytokines et inhibe la prolifération des lymphocytes T.

Sur les cellules T, la liaison de CD73 au récepteur 2A de l'adénosine entraîne également la formation d'adénosine, ce qui altère la réponse immunitaire au blocage de PD-1/PD-L1⁹¹. La surexpression de CD73 est ainsi un autre mécanisme pouvant contribuer à la résistance acquise au traitement anti-PD-1/PD-L1.

Certaines cytokines immunosuppressives comme l'IL-35 sont capables de restreindre la fonction des lymphocytes T. Cette interleukine en particulier régule à la baisse l'expression des gènes cytotoxiques dans les lymphocytes T CD8+ et réduit leurs fonctions cytolytiques et non cytolytiques⁹².

Par ailleurs, les cellules tumorales présentent une consommation élevée d'oxygène après le blocage de PD-1, ce qui entraîne une hypoxie dans le microenvironnement tumoral favorisant l'épuisement des lymphocytes T⁹³.

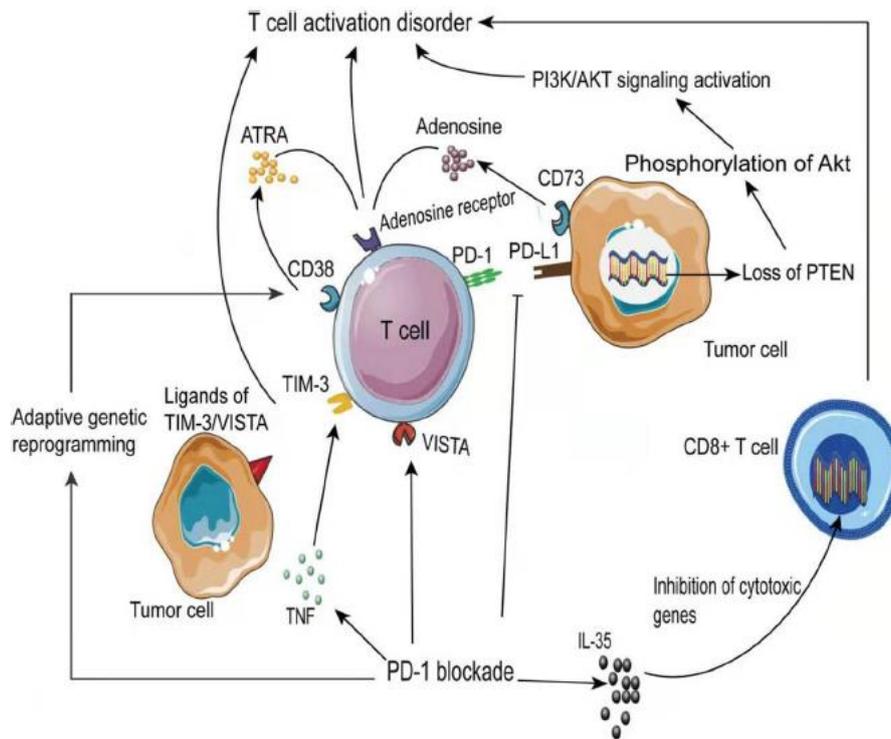


Figure 10 : L'inhibition de l'activité des cellules T entraîne une résistance à l'immunothérapie anti-PD-1/PD-L1. Après le blocage de PD-1, la sécrétion de cytokines entraîne des altérations génétiques dans les cellules T, régulant à la hausse CD38 et favorisant la liaison de l'ATRA au récepteur de l'adénosine, ce qui inhibe l'activation des cellules T par l'adénosine, de Ren, Daixi et al. "Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy." Molecular cancer vol. 19,1 19. 30 Jan. 2020.

IDO1, une protéine de point de contrôle immunitaire, inhibe également les cellules T en favorisant le catabolisme du tryptophane, participant ainsi à la résistance aux inhibiteurs de point de contrôle⁹⁴. Par ailleurs, les cellules T antitumorales peuvent être supprimées par les cellules de T régulatrices et les cellules suppressives dérivées de la myéloïde (MDSC) via IDO1, ce qui favorise l'évasion immunitaire de la tumeur⁹⁵. Dans les GIST (tumeurs stromales gastro-intestinales) et les sarcomes des tissus mous, l'activation de la voie IDO1 entraîne une suppression immunitaire, ce qui diminue l'efficacité de la thérapie anti-PD-1⁹⁶.

B) Résistance causée par des changements dans l'expression de la PD-L1

Dans certains cancers, l'expression des PDL1 est déterminée de manière constitutive par des voies de signalisation aberrantes ou des altérations chromosomiques. Nous avons vu par exemple que des mutations de PTEN provoquant l'activation de la voie PI3K-AKT peuvent entraîner une large expression de PDL1 à la surface de la majorité des cellules tumorales.

La PDL1 peut également être exprimée dans le microenvironnement tumoral par un mécanisme appelé résistance immunitaire adaptative. Ce mécanisme a été corroboré dans une étude portant sur des échantillons de mélanomes humains⁹⁷. Dans cette étude, il a été mis en évidence :

- l'expression large et constitutive de PDL1 par les cellules tumorales en l'absence d'une réponse immunitaire substantielle de l'hôte, en accord avec la régulation positive constitutive PDL1 susmentionnée,
- l'expression PDL1 associée de manière focale et géographique à la réponse immunitaire antitumorale de l'hôte (régulation adaptative),
- les tumeurs qui ont des cellules immunitaires infiltrées mais qui n'expriment pas la PDL1 et
- les tumeurs qui n'ont pas de réponse immunitaire ni d'expression PDL1.

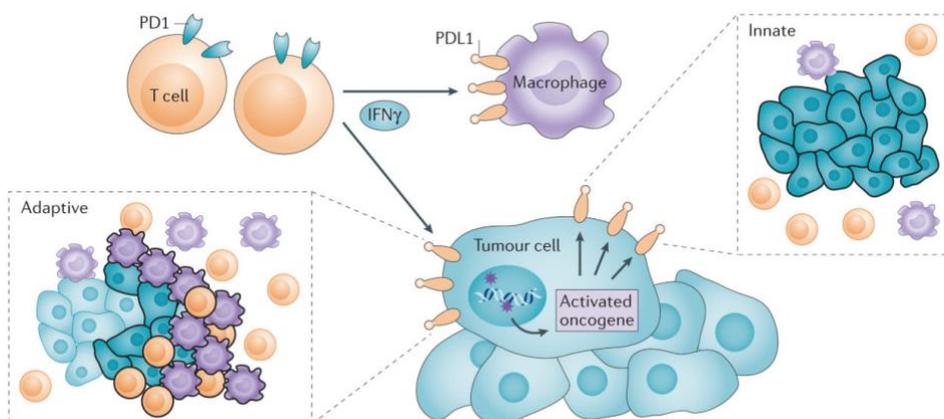


Figure 11 : Mécanismes d'expression intratumorale de PDL1. Les cellules exprimant PDL1 sont représentées avec un contour noir. Les cellules tumorales sont représentées en bleu, les cellules T en orange et les macrophages en violet. Dans l'encadré de droite, l'expression constitutive de PDL1 sur les cellules tumorales est due à des voies de signalisation aberrantes telles que PI3K/AKT ou à des altérations chromosomiques. En revanche, dans l'encadré de gauche, l'expression adaptative de PDL1 résulte de l'interaction des cellules tumorales avec les cellules immunitaires infiltrantes sécrétant de l'IFN-gamma, Topalian, Suzanne L et al. "Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy." *Nature reviews. Cancer* vol. 16,5 (2016)

Des études plus récentes menées sur différents types de cancer indiquent que les mécanismes constitutifs et adaptatifs de l'expression de PDL1 dans les tumeurs ne sont pas incompatibles. Par exemple, dans les cancers épidermoïdes de la tête et du cou, il a été observé que l'expression de PDL1 pouvait être induite à la fois par des

mécanismes de résistance immunitaire constitutive et adaptative au sein d'une même tumeur⁹⁸.

Comme décrit au chapitre 1, le blocage de PD-1/PD-L1 est plus efficace dans les tumeurs dont l'expression est positive pour la PD-L1. Le traitement par un bloqueur de PD-1 peut entraîner une augmentation de l'expression de PD-L1, ce qui peut conduire à une résistance au traitement. En effet, les anticorps ne suffisent plus à bloquer complètement PD-1/PD-L1. Inversement, une faible expression de PD-L1 réduit l'efficacité, ce qui peut s'expliquer par d'autres mécanismes d'échappement immunitaire. Nous allons ici regarder plus en détails ces mécanismes de résistance constitutive et adaptative.

a) La régulation constitutive de PD-L1 :

Nous avons vu au premier chapitre que la voie JAK/STAT était critique pour l'expression de la PD-L1 et la présentation de l'antigène. Ainsi, des mutations associées à des pertes de fonction dans cette voie entraîneront une résistance aux traitements par inhibiteurs de points de contrôle.

Dans le mélanome, une résistance a été observée chez un petit nombre de patients en raison de mutations inactivant JAK1/JAK2. Plus généralement, la perte d'hétérozygotie dans une longue liste de gènes liés à l'activité de la voie de signalisation de l'interféron gamma a été statistiquement associée à la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle dans une petite cohorte de 16 patients atteints de mélanome traités par anti-CTLA-4 et a été confirmée rétrospectivement dans une cohorte plus importante de patients atteints de mélanome non apparentés⁹⁹.

Les tumeurs présentant des mutations du gène BRAF, une sérine/thréonine protéine kinase jouant un rôle dans la croissance cellulaire, présentent également une expression plus élevée de PD-L1, ce qui induit une résistance aux médicaments impliquant les cellules stromales des tumeurs. Les mutations de BRAF provoquent également une activation constitutive de la voie de signalisation MAPK, augmentent l'activité tumorigène, accroissent l'invasivité et les métastases et entraînent une résistance¹⁰⁰.

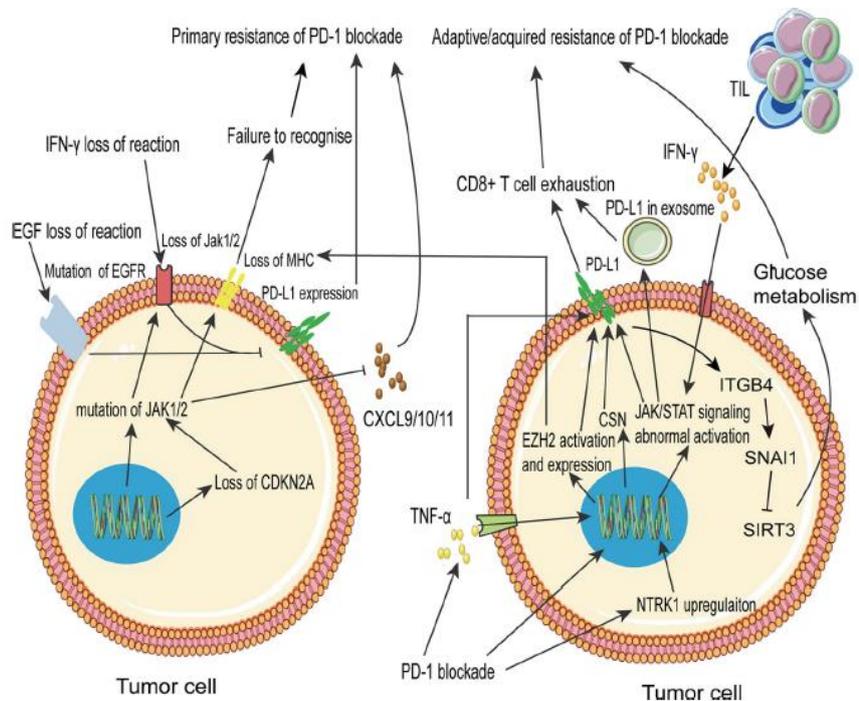


Figure 12 : Les modifications de l'expression de PD-L1 contribuent à la résistance. Des mutations dans des gènes tels que JAK entraînent une perte de l'expression de PD-L1, ce qui affecte la présentation des antigènes et contribue à la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle. Cette régulation constitutive de l'expression de PDL1 n'est pas une résultante directe du blocage de PD1. de Ren, Daixi et al. "Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy." Molecular cancer vol. 19,1 19. 30 Jan. 2020.

b) La régulation adaptative de PD-L1 :

De nombreux facteurs conduisent à la régulation adaptative de la PD-1 et à la résistance aux médicaments.

Entre autres, l'expression du récepteur à la tyrosine kinase NTRK1 est régulé à la hausse par la thérapie anti-PD-1, ce qui active anormalement la voie de signalisation JAK-STAT et entraîne une régulation positive de la PD-L1 ainsi que d'autres récepteurs inhibiteurs. Ceci a été observé dans des modèle murin de cancer du poumon¹⁰¹.

La voie JAK/STAT peut également être activée par l'INF-gamma. En effet, dans l'immunité antitumorale, la signalisation chronique persistante de l'interféron gamma entraîne des modifications épigénétiques liées à la tumeur dans STAT 1, ce qui se traduit par une augmentation de l'expression des gènes stimulés par l'interféron, des ligands MHCII et des récepteurs inhibiteurs des cellules T, dont TIM3, LAG3 et PD-L1, ce qui entraîne une inhibition de l'activité des cellules T et une résistance adaptative aux inhibiteurs de points de contrôle. Ce mécanisme a notamment pu être observé dans le lymphome.

Nous avons abordé le rôle immunosuppresseur de l'histone méthylase EZH2 au chapitre 1. L'immunothérapie favorise l'activité d'EZH2, réduisant la présentation des antigènes et entraînant ainsi une résistance adaptative. Par ailleurs, dans les adénocarcinomes pulmonaires, les patients EZH2-positifs présentent une expression élevée de PD-L1 ¹⁰². Après l'inactivation de l'EZH2, la résistance est inversée par

l'agrégation continue des cellules T CD8+ avec de faibles niveaux de PD-1 et d'IFN-gamma.

L'immunothérapie entraîne également la production de TNF- α . Chez les patients atteints de mélanome métastatique traités par la PD-1, l'expression du TNF est augmentée et il existe une forte corrélation positive entre le TNF et le PDCD1LG1 (codant pour la PD-L1) ce qui témoigne du rôle potentiel du TNF dans la médiation de la résistance aux inhibiteurs de points de contrôle. À l'appui, il a été observé chez la souris que le TNF peut favoriser l'expression d'EZH2 dans les cellules tumorales et déclencher une récurrence tumorale ¹⁰³.

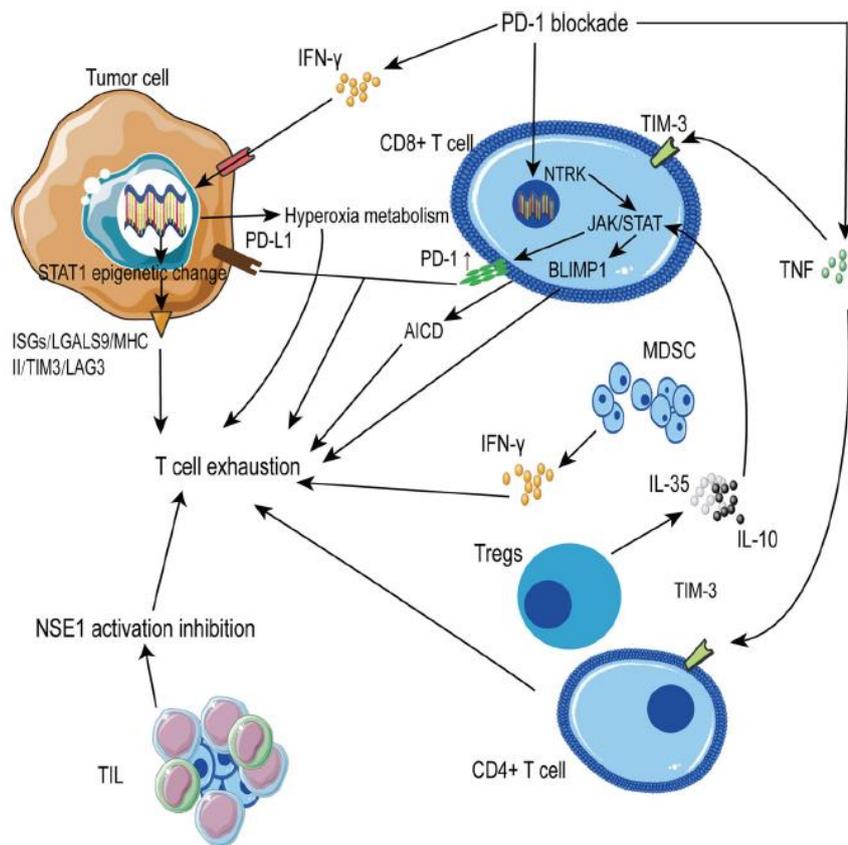


Figure 13 : La résistance au traitement par blocage de PD-1 causée par la déplétion des cellules T. Le blocage de PD-1 favorise la libération de cytokines telles que l'IFN-gamma et le TNF, ce qui entraîne des modifications épigénétiques dans la tumeur et se traduit par l'expression de ligands MHCII et de récepteurs inhibiteurs des cellules T, notamment TIM3, LAG3 et PD-L1. Le traitement anti-PD-1 peut aussi réguler à la hausse Ntrk1 ce qui active la signalisation Jak/Stat pour promouvoir l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales, favorisant également l'épuisement des cellules T au sein du microenvironnement tumoral, de Ren, Daixi et al. "Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy." *Molecular cancer* vol. 19,1 19. 30 Jan. 2020.

Ainsi, un environnement tumoral immunosuppresseur et les mécanismes constitutifs et adaptatifs entraînant des modifications de l'expression de PD-L1 entravent l'action antitumorale des lymphocytes T et entraînent une résistance aux thérapies à base d'inhibiteurs de points de contrôle.

Les mécanismes de résistance à l'immunothérapie que nous avons vus dans ce chapitre interviennent à différentes étapes du cycle immunitaire du cancer, entravant

son bon déroulement et la répression immunitaire des tumeurs. Dans le prochain chapitre, nous aborderons les approches combinées visant à contrer ces mécanismes de résistance, ce qui permettra de lever un second verrou aux différentes étapes du cycle cancer-immunité et de restaurer le cycle et ainsi la réponse à l'immunothérapie.

Chapitre 3 : Approches combinées avec le blocage des points de contrôle immunitaire

Dans ce chapitre, nous proposerons différentes combinaisons thérapeutiques qui permettront de surmonter les mécanismes de résistance, éliminant ainsi un second blocage aux différentes étapes du cycle cancer-immunité et permettant la restauration du cycle et la réponse à l'immunothérapie. Dans un premier temps nous allons présenter les différentes combinaisons qui ont été explorées en recherche préclinique et clinique et qui interviennent pour amplifier ou restaurer les différentes étapes du cycle cancer immunité (Figure 14). Nous verrons ensuite une classification qui nous permettra de distinguer les différents types de tumeurs en fonction de leurs phénotypes et des caractéristiques que nous avons vues aux chapitres 1 et 2 et qui nous permettra d'envisager les bonnes combinaisons thérapeutiques suivant le type de tumeurs.

Il est important de garder à l'esprit que les traitements peuvent provoquer d'importants effets indésirables, même en étant basés sur des mécanismes ciblés. Il faut donc tenir compte du fait que les stratégies de combinaison, en associant plusieurs traitements, sont susceptibles de générer davantage d'effets indésirables. De plus, ces stratégies doivent être soigneusement configurées afin de ne pas neutraliser aveuglément les mécanismes de rétroaction négative qui maintiennent les activités inflammatoires et auto-immunes sous contrôle.

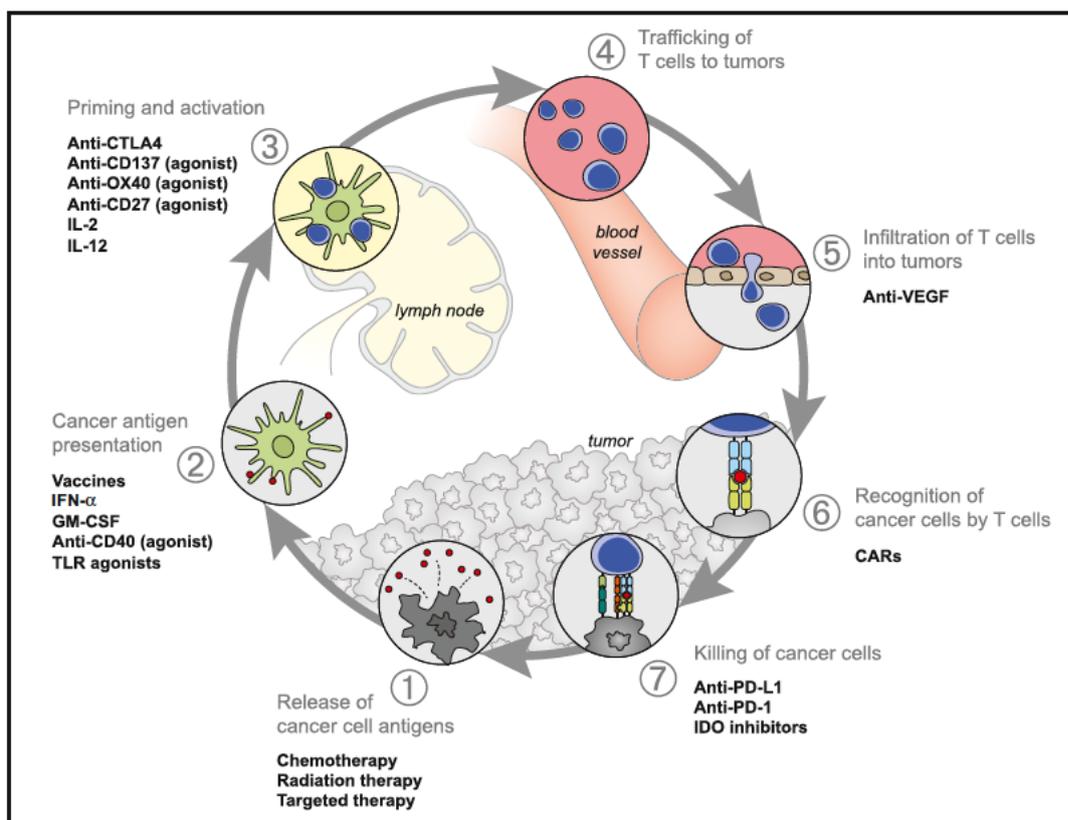


Figure 14 : Thérapies susceptibles d'affecter le cycle cancer-immunité, Chen, Daniel S, and Ira Mellman. "Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle." *Immunity* vol. 39,1 (2013)

I) COMBINAISONS AVEC LA STIMULATION DES SIGNAUX DE L'ANTIGÈNE ET DE DANGERS (étape 1)

La chimiothérapie, la radiothérapie et les thérapies ciblées peuvent contribuer à la mort immunogène des cellules cancéreuses. Cette mort cellulaire immunogène entraîne la libération d'antigènes tumoraux et de "signaux de danger", également appelés DAMP (motifs moléculaires associés aux dommages), tels que l'ATP, la calréticuline ou l'IFN de type I¹⁰⁴. Leur liaison aux récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) sur les cellules dendritiques entraîne leur activation, une augmentation de la présentation des antigènes, une régulation positive des récepteurs costimulateurs et l'induction de réponses immunitaires adaptatives, tandis que la mort cellulaire immunologiquement silencieuse induit la tolérance. Les thérapies évoquées ci-dessous favorisent la libération d'antigènes dans les tumeurs, augmentant leur immunogénicité, et contribuent ainsi à rétablir la première étape du cycle d'immunité contre le cancer. En augmentant la charge mutationnelle de la tumeur, ces thérapies tentent de saturer les mécanismes d'immuno-édition qui confèrent une résistance aux inhibiteurs de points de contrôle.

A) La chimiothérapie

Plusieurs études ont montré que la chimiothérapie pouvait sensibiliser les tumeurs au blocage des points de contrôle en stimulant l'activation des lymphocytes T et leur infiltration dans la tumeur. La chimiothérapie peut également provoquer une déplétion des lymphocytes T régulateurs et des cellules myéloïdes suppressives.

À l'appui, une approche de chimio-immunothérapie associant des inhibiteurs de PD-1 ou de CTLA-4 à l'oxaliplatine s'est révélée synergique en générant un grand nombre de cytokines pro-inflammatoires, de lymphocytes infiltrant la tumeur et en dérégulant les points de contrôle inhibiteurs dans des modèles murins de cancer colorectal¹⁰⁵. L'objectif est de transformer les tumeurs "froides" non immunogènes en tumeurs "chaudes" en activant les cellules T existantes pour les rendre plus sensibles à l'immunothérapie. Dans ce contexte, l'immunomodulation par chimiothérapie avant l'inhibition des points de contrôle semble prometteuse. Dans un essai de phase II, 50 patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique ont reçu du nivolumab après une chimiothérapie à faible dose. Ce traitement a permis d'obtenir un taux de réponse global de 24 % et une survie globale de 80 % à un an, supérieur aux monothérapies anti-PD-1 existantes, avec un niveau de toxicité acceptable¹⁰⁶. Ainsi, de telles stratégies associant des chimiothérapies immunogènes à faible dose suivies d'inhibiteurs de points de contrôle peuvent renforcer l'immunogénicité des tumeurs. Ces stratégies promettent d'éviter les rechutes tumorales en détruisant les cellules cancéreuses dormantes et pourraient être intégrées dans de futures stratégies combinées.

Une récente étude de phase III portant sur 616 patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules métastatique a montré que l'association du pembrolizumab et de la chimiothérapie (Pemetrexed et platines) était significativement meilleure que la chimiothérapie seule (taux de réponse global de 48 % contre 19 %), sans modification du taux des effets indésirables liés à l'immunité (auto-immuns)¹⁰⁷. Il est intéressant de noter que la survie globale des patients s'est améliorée, quel que soit le niveau d'expression de PD-L1 dans la tumeur et même chez les patients PD-L1-. Ces résultats soutiennent l'utilisation du pembrolizumab en association avec la chimiothérapie comme traitement standard plutôt que la chimiothérapie seule dans le traitement de première ligne du cancer du poumon non à petites cellules métastatique¹⁰⁸.

B) La radiothérapie

La radiothérapie entraîne une destruction locale des cellules tumorales, mais elle peut aussi agir efficacement comme un vaccin in situ et moduler l'immunité locale et systémique. En effet, la radiothérapie stimule la réponse des lymphocytes T aux peptides induits par la radiothérapie, mais aussi aux antigènes tumoraux naturels ou exogènes, et exerce un contrôle immunitaire dans le microenvironnement tumoral. Les cellules T CD8+ peuvent donc contribuer à la réduction de la tumeur primaire et provoquer la régression de lésions qui résident en dehors du champ de la radiothérapie via une réponse systémique, ce que l'on appelle "l'effet abscopal". Ces réponses peuvent être maximisées lorsque la radiothérapie est associée de manière rationnelle à l'immunothérapie.

D'autre part, la radiothérapie peut entraîner des modifications de l'expression génétique dans différentes cellules du microenvironnement tumoral. Certaines études ont montré que la radiothérapie induisait une augmentation de l'expression du CMH de classe 1, d'ICAM-1 (molécule d'adhésion intercellulaire 1), du récepteur de mort Fas (appartenant à la superfamille des récepteurs du TNF) et de la molécule stimulatrice CD80 sur les cellules tumorales, améliorant ainsi la présentation de l'antigène et la reconnaissance des cellules T¹⁰⁹. D'autres études ont montré que la radiothérapie pouvait augmenter de manière adaptative l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales dans le cancer du poumon¹¹⁰. Ces observations font de la radiothérapie un excellent candidat pour les approches combinées avec les inhibiteurs de point de contrôle.

Une telle association d'inhibiteurs de points de contrôle et de radiothérapie a permis d'augmenter significativement l'infiltration tumorale des lymphocytes T et d'accroître le taux de réponse global (ORR) dans le cancer du poumon, le cancer de la prostate et le glioblastome¹¹¹. En outre, seule une toxicité faible à modérée a été signalée lors de l'association du blocage de CTLA-4 ou PD-1 à la radiothérapie dans le cancer du

poumon métastatique¹¹². Par conséquent, de futures études combinant l'anti-PD-1 et la radiothérapie pourraient améliorer le taux de réponse global, en particulier chez les patients dont le microenvironnement tumoral présente une forte expression de PD-L1 et des lymphocytes CD8+ infiltrants.

Enfin, dans une étude de phase I/II menée chez des patients atteints d'un cancer de la prostate résistant à la castration, les tumeurs ont d'abord été irradiées, puis l'ipilimumab (anti-CTLA-4) a été administré deux jours plus tard pour renforcer la présentation des antigènes¹¹³. Des effets systémiques combinés entraînant une réponse complète ont été obtenus avec relativement peu d'effets indésirables graves (10 %).

À l'avenir, afin d'optimiser l'efficacité des approches combinées avec la radiothérapie, le défi consistera à déterminer, d'un point de vue mécanistique, comment la radiothérapie peut induire au mieux la mort cellulaire immunogène pour déclencher une nouvelle réponse des lymphocytes T, ce qui dépendra probablement du type de tumeur et de sa localisation, et de la manière dont la radiothérapie affecte le microenvironnement tumoral irradié et distal.

C) Thérapies ciblées :

Les inhibiteurs de points de contrôle sont associés ici à des médicaments qui modulent la signalisation des facteurs de croissance, principalement des inhibiteurs de protéines kinases ou de phosphatases. Les tyrosines kinases jouent un rôle important dans l'immunogénicité, la cytotoxicité ainsi que dans la genèse des tumeurs. Par conséquent, leurs inhibiteurs offriraient un effet synergique naturel avec les inhibiteurs de points de contrôle.

Le proto-oncogène (gène normal susceptible de conférer un phénotype cancéreux) BRAF favorise la prolifération cellulaire, et des mutations de BRAF ont été découvertes dans la moitié des cas de mélanome. Dans les mélanomes présentant une mutation de BRAF (BRAFF600E), l'inhibiteur spécifique vemurafenib a potentialisé l'induction de molécules de CMH de classe 1 et supprimé la sécrétion de cytokines immunosuppressives¹¹⁴. Malheureusement, une étude de phase I portant sur la thérapie combinée ipilimumab et vemurafenib a été interrompue en raison d'événements indésirables graves liés au système immunitaire¹¹⁵. Cependant, étant donné que PD-L1 est exprimé à la hausse dans les cellules cancéreuses après l'inhibition de BRAF et que le traitement par anticorps PD-1 est moins toxique que le traitement par anticorps CTLA-4, l'inhibition de BRAF en association avec le traitement par anticorps PD-1 semble prometteuse.

Un autre obstacle est que l'inhibition de BRAF peut activer la signalisation MAPK dans les lymphocytes T. Cela peut entraîner leur épuisement et même renforcer la

suppression immunitaire¹¹⁶. La MEK phosphoryle et active la protéine kinase MAPK. Par conséquent, une combinaison de trois médicaments - un inhibiteur de MEK, un inhibiteur de BRAF et un anticorps anti-PD-L1 - pourrait optimiser la réponse des cellules T et limiter les effets secondaires auto-immuns, car un inhibiteur de MEK supplémentaire pourrait empêcher une activation excessive des cellules T causée par l'inhibition de BRAF. À cette fin, l'association d'un inhibiteur de MEK (tramétinib) et d'un inhibiteur de BRAF (dabrafénib) avec un anticorps anti-PD-L1 (durvalumab) a été employée avec succès dans une étude de phase I chez des patients atteints de mélanome¹¹⁷. Cependant, davantage de données sur leur efficacité clinique sont nécessaires.

Dans l'ensemble, les stratégies thérapeutiques combinant les inhibiteurs de points de contrôle avec la chimiothérapie, la radiothérapie et les thérapies ciblées en vue de stimuler la réponse immunitaire semblent très prometteuses.

II) COMBINAISONS AVEC LA STIMULATION DE LA PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE ET LA CO-STIMULATION (étape 2)

Nous avons exploré certains processus cooptés par les cellules tumorales qui donnent naissance à des cellules dendritiques tolérogènes qui, en empêchant une présentation efficace de l'antigène, font passer les cellules T dans un état de tolérance spécifique à la tumeur et peuvent expliquer certains des résultats décevants des thérapies par inhibiteurs de points de contrôle. Les vaccins peptidiques, les vaccins à base de cellules, les virus oncolytiques et les agonistes des molécules de costimulation sur les cellules présentatrices d'antigènes (comme les cellules dendritiques) peuvent être utilisés pour stimuler la présentation de l'antigène et tenter de combattre ces mécanismes de résistance.

La vaccination va diriger le système immunitaire vers les cellules tumorales par la présentation d'un antigène et cela peut se faire via différentes options ;

- L'injection d'une copie synthétique de l'antigène tumoral (vaccin peptidique), éventuellement associée à une molécule adjuvante capable de stimuler la réponse immunitaire.
- L'injection de cellules dendritiques différenciées à partir de cellules hématologiques propres au patient, matures et chargées en antigènes tumoraux pour stimuler les cellules T.
- L'injection de virus manipulés en laboratoire pour produire des antigènes de tumeurs.

A) Les vaccins Peptidiques

Dans une étude de phase I avec des patients atteints de mélanome à un stade avancé, la vaccination avec un antigène tumoral du mélanome, une séquence modifiée de la glycoprotéine 100 (gp100), a augmenté la fréquence des cellules T CD8+ spécifiques du mélanome ¹¹⁸.

Dans une étude de phase III chez des patients atteints de mélanome avancé, l'association de l'ipilimumab (anti-CTLA-4) et d'un vaccin peptidique à base de gp100 n'a pas amélioré la durée de vie, par rapport à l'anti-CTLA-4¹¹⁹. Cependant, dans une étude de phase 1, le ciblage de plusieurs antigènes avec un vaccin multi-peptidique a augmenté le nombre de cellules T CD8+ spécifiques chez des patients atteints de mélanome avancé lorsqu'il a été associé à un anti-PD-1 (nivolumab), et une survie prometteuse de 87 % à un an a été obtenue¹²⁰. Ainsi, les premières données cliniques indiquent que le blocage des points de contrôle immunitaire associé aux vaccins multi-peptidiques est très prometteur.

Par ailleurs, des vaccins poly(lactide-co-glycolide), des microparticules polymériques biodégradables qui contrôlent la vitesse de libération des antigènes piégés, a donné des résultats prometteurs dans la suppression du mélanome B16 chez la souris lorsqu'il a été associé à un inhibiteur du point de contrôle CTLA-4, avec une augmentation de 75 % du temps de survie¹²¹.

B) Les vaccins cellulaires

Des essais cliniques combinant la thérapie des points de contrôle avec des vaccins cellulaires sont également en cours, tels qu'un essai de phase I combinant l'injection de cellules dendritiques chargés avec des antigènes tumoraux (MART-126-35-) avec l'anti-CTLA-4 (tremelimumab) chez des patients atteints de mélanome métastatique¹²² ou encore avec l'anti-PD-1 (nivolumab) chez des patients atteints de tumeurs cérébrales récurrentes¹²³. Par ailleurs, l'association du le blocage de PD-1/PD-L1 avec la vaccination par cellules dendritiques dans le glioblastome généralement associé à un pronostic extrêmement défavorable semble très prometteuse.

L'association Sipuleucel-T T (cellules dendritiques activées, premier vaccin anticancéreux approuvé par la FDA) et de l'ipilimumab fait actuellement l'objet d'essais de phase II contre le cancer de la prostate. En effet, les inhibiteurs de points de contrôle pourraient contrer l'inactivation des cellules T résultant de l'immunosuppression induite par le microenvironnement tumoral à l'origine de l'efficacité limitée du Sipuleucel-T en monothérapie.

Cependant, un vaccin cellulaire constitué de cellules tumorales irradiées, le GVAX, pourrait être plus approprié. En effet, GVAX délivre des antigènes multiples et produit du GM-CSF, le facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages. Le GM-CSF favorise la présentation des antigènes en attirant les cellules dendritiques, en stimulant la différenciation des monocytes en cellules dendritiques et en favorisant leur maturation.

Au cours d'études précliniques, ces vaccins ont considérablement augmenté l'efficacité de l'inhibition anti-CTLA-4 contre les cancers de la prostate et du pancréas et dans le mélanome en augmentant le nombre de cellules T CD8+ et le rapport entre les cellules T effectrices et les cellules T régulatrices dans les tumeurs¹²⁴, avec un taux de réponse de 80 % contre 16 % avec le GVAX seul¹²⁵.

Des résultats similaires ont été observés avec les anti-PD1 associés au vaccin GVAX dans les modèles murins de mélanome B16 et de carcinome du colon CT26¹²⁶ et dans l'adénocarcinome du canal pancréatique alors que la monothérapie dans ce dernier cas est inefficace.

Les études cliniques associant les vaccins cellulaires et les inhibiteurs de points de contrôle sont encore rares. Néanmoins, dans un essai de phase I/II avec des patients atteints de cancer prostate résistant à la castration métastatique, le traitement avec GVAX plus anti-CTLA-4 s'est avéré sûr et a diminué l'antigène spécifique de la

prostate (un marqueur tumoral) de 50%, chez 25% des patients¹²⁷. Les premières données précliniques et cliniques sur la combinaison de vaccins cellulaires avec des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire sont donc prometteuses et justifient la poursuite des essais cliniques.

C) Les virus oncolytiques

T-VEC (Talimogene laherparepvec), un herpèsvirus oncolytique modifié pour produire du GM-CSF peut également être administré localement aux tumeurs. Ce virus oncolytique infecte les cellules tumorales et favorise directement la mort cellulaire en libérant des antigènes qui stimulent une réponse immunitaire antitumorale. Le T-VEC a été approuvé par la FDA pour le traitement de certains patients atteints d'un mélanome métastatique inopérable. Dans une étude de phase Ib chez des patients atteints de mélanome, la perfusion intratumorale de T-VEC en combinaison avec l'ipilimumab a produit un taux de réponse de 50% et un profil de sécurité tolérable. Toujours dans le mélanome, Le T-VEC est actuellement testé chez en association avec un médicament anti-CTLA-4 (ipilimumab) dans une étude de phase II¹²⁸ et avec un médicament anti-PD-1 (pembrolizumab) dans une étude de phase Ib/III¹²⁹. Ce dernier a montré un bénéfice clinique et un essai de phase III est prévu¹³⁰. Compte tenu de l'efficacité clinique du T-VEC et de l'anti-CTLA-4, l'inhibition des points de contrôle immunitaire avec les virus oncolytiques semble être l'une des approches combinées les plus prometteuses.

D) Les Anti-CD40 et Anti-CD47

Le CD40, un médiateur de l'activation des cellules présentatrices d'antigènes, est exprimé de manière constitutive sur les cellules présentatrices de l'antigène et, comme le GM-CSF, les anticorps agonistes du CD40 provoquent la maturation des cellules dendritiques et l'expression de molécules costimulatrices. Un taux de réponse de 27,3 % a été obtenu avec un anti CD40 plus un anti-CTLA-4 (tremelimumab) dans une étude de phase I chez des patients atteints de mélanome¹³¹. D'autre part, un essai de phase I sur des patients atteints de mélanome métastatique avec le tremelimumab (anti-PD-1) et un anticorps monoclonal agoniste du CD40 a permis d'obtenir un taux de réponse global (ORR) de 27%, une survie globale (OS) de 26 mois et une réponse complète dans 8% des cas. Bien que 79 % des patients aient développé un syndrome de libération de cytokines, celui-ci a pu être pris en charge par les soins standards¹³². Ces taux de réponse s'expliquent probablement également par le fait que les anti-CD40 régulent eux aussi PD-L1 à la hausse, comme cela a été démontré dans un modèle de souris¹³³.

À l'avenir, la thérapie combinée avec des anticorps antagonistes pour CD47 pourrait également être utilisée pour stimuler la présentation de l'antigène et émettre un signal "ne me mange pas" aux cellules présentatrices d'antigènes¹³⁴.

Les combinaisons thérapeutiques avec les anticorps anti-CD40 ou anti-CD47 peuvent donc également être utilisées pour améliorer la présentation des antigènes, mais les données disponibles suggèrent qu'elles seraient moins efficaces que les autres approches proposées dans ce contexte.

Dans l'ensemble, les données précliniques et cliniques sur la combinaison de l'inhibition des points de contrôle immunitaire avec les virus oncolytiques et les vaccins multipeptidiques sont prometteuses, alors que la combinaison avec les vaccins anti-CD40 et les vaccins mono-peptidiques semble moins efficace à ce jour.

III) COMBINAISONS AVEC LA STIMULATION DE L'ACTIVATION DES LYMPHOCYTES T (étape 3)

Certains mécanismes de résistance impliquent l'inactivation des lymphocytes T par l'activation d'autres points de contrôle immunitaires chez le patient après l'initiation d'un traitement à base d'inhibiteurs de points de contrôle. Des approches combinées à base d'anti-CTLA-4 ou d'anti-PD-1 avec le blocage d'autres points de contrôle immunitaires sont alors envisagées pour lever ce second verrou d'inactivation et amplifier davantage les réponses immunitaires antitumorales.

A) Le double blocage des points de contrôle immunitaire

Nous avons vu que le blocage de CTLA-4 ou de PD-1 seul entraînait une régulation à la hausse de la voie non bloquée. L'efficacité de l'une ou l'autre monothérapie est ainsi limitée par l'inhibition accrue de la réponse des lymphocytes T par l'autre des deux voies. Par ailleurs, la synergie des anticorps anti-PD-1 et anti-CTLA-4 est également justifiée par la complémentarité de ces deux mécanismes d'action.

L'efficacité du blocage combiné de CTLA-4 et de PD-1 a été vérifiée dans des modèles précliniques de mélanome B16¹³⁵ et de modèle d'ostéosarcome métastatique¹³⁶. Elle s'explique par une amélioration de l'infiltration et de la prolifération des lymphocytes T effecteurs, par la production de cytokines inflammatoires et par l'augmentation du rapport entre les lymphocytes T CD8+ et les cellules T régulatrices et MDSC dans la tumeur.

Dans une étude de phase II menée chez des patients atteints de mélanome avancé associant un anti-PD-1 (nivolumab) à un anti-CTLA-4 (ipilimumab), il a été observé des taux de réponse plus élevés (61 % contre 11 % pour l'anti-CTLA-4 seul) et davantage de réponses complètes (22 % contre 0 % pour l'anti-CTLA-4 seul). De même, une étude de phase III a fait état d'une survie sans progression plus longue (11,2 mois contre 2,9 mois pour les anti-CTLA-4 et 6,9 mois pour les anti-PD-1). Cependant, la proportion d'effets indésirables auto-immuns sévères liés au traitement était plus élevée (55% contre 27,3% avec l'anti-CTLA-4 et 16,3% avec l'anti-PD-1)¹³⁷. Sur la base de ces résultats, la FDA a accordé en 2015 une autorisation accélérée pour la combinaison de l'ipilimumab et du nivolumab dans le traitement du mélanome non résecable ou métastatique.

Une étude de phase I/II est actuellement en cours, combinant anti-CTLA-4 et anti-PD-1 chez des patients atteints de sarcomes et de tumeurs solides, afin d'obtenir des informations sur l'efficacité et la sécurité d'une double inhibition des points de contrôle immunitaires dans des types de tumeurs autres que le mélanome.

B) Les nouveaux points de contrôle immunitaires

Dans ce qui suit, nous décrivons les cibles émergentes et leurs combinaisons possibles avec les inhibiteurs de points de contrôle de première génération.

De nombreuses études récentes ont mis en évidence des inhibiteurs de points de contrôle alternatifs émergents comme cibles de futures monothérapies et/ou d'associations thérapeutiques. Si les inhibiteurs de points de contrôle CTLA-4 et PD-1 sont actuellement au centre de l'attention clinique en immunothérapie, il existe d'autres inhibiteurs de points de contrôle au potentiel remarquable qui promettent d'élargir les options de traitement et d'améliorer le bénéfice pour les patients.

Le gène d'activation des lymphocytes 3 (LAG-3), le suppresseur de type immunoglobuline à domaine V de l'activation des lymphocytes T (VISTA), l'immunoglobuline de cellule T et protéine 3 de mucine (TIM-3) et le domaine ITIM des cellules T (TIGIT) sont également exprimés de manière prédominante sur les cellules T épuisées et peuvent contribuer à l'évasion immunitaire des cellules tumorales. Ces voies de signalisation immunomodulatrices ont désormais été identifiées comme étant des cibles thérapeutiques de nouvelle génération.

L'inhibition de PD-1 et de LAG-3 est particulièrement intéressante dans la mesure où elle pourrait préserver un profil de sécurité favorable. En effet, PD-1 et LAG-3 étant tous deux principalement exprimés sur les lymphocytes infiltrant la tumeur, les réponses des cellules T se restreindraient au microenvironnement tumoral.

Cette association a donné des résultats prometteurs dans les modèles de fibrosarcome et de cancer colorectal, mais n'a pas affecté la croissance tumorale dans le modèle de mélanome B16¹³⁸. Cela est probablement dû à la faible expression de LAG-3 et de PD-1 sur les lymphocytes infiltrant la tumeur dans le modèle B16.

VISTA fonctionne comme un récepteur co-inhibiteur lorsqu'il est exprimé sur les cellules T. Lorsqu'il est exprimé sur les cellules présentatrices d'antigènes et les cellules myéloïdes tumorales, il agit comme un ligand qui se lie aux cellules T, inhibant leur prolifération et la production de cytokines. L'association d'anti-PD-1 et d'anti-VISTA a favorisé de manière synergique la régression et la survie à long terme dans des modèles de cancer colorectal¹³⁹. Une étude de phase 1 dans les tumeurs solides est actuellement en cours et permettra d'évaluer cette combinaison en clinique¹⁴⁰.

LAG-3, TIGIT et TIM-3 sont chacun fortement exprimés sur les lymphocytes T dysfonctionnels au sein des tumeurs. La synergie de leurs blocages pourrait surmonter la résistance immunosuppressive des cellules T régulatrices et renforcer la fonction des cellules NK et des cellules T CD8+, avec un meilleur profil de sécurité que les inhibiteurs CTLA-4 et PD-1. De nouvelles combinaisons d'inhibiteurs de première et de deuxième génération promettent donc de produire des réponses plus fortes contre toute une série de tumeurs malignes. À l'avenir, CTLA-4 et PD-1 pourraient jouer un

rôle de récepteurs cibles de premier niveau, principalement responsables du maintien de l'autotolérance immunitaire globale, et les récepteurs de deuxième niveau LAG-3, TIGIT et TIM-3, dont les effets sur les fonctions effectrices des cellules T CD8+ et NK se chevauchent, joueraient des rôles plus spécifiques¹⁴¹.

En conclusion, les thérapies combinées avec les nouveaux inhibiteurs de points de contrôle représentent une opportunité importante en raison de leur profil de sécurité plus favorable que celui des anti-CTLA-4 combinés aux anti-PD-1. L'évaluation de ces approches en clinique est donc essentielle.

IV) COMBINAISONS AVEC L'INHIBITION DU TRAFIC DES CELLULES RÉGULATRICES T OU DES MDSC (étape 4)

Outre le recrutement des cellules T antitumorales à l'étape 4 du cycle cancer-immunité, les tumeurs attirent également les cellules myéloïdes suppressives (MDSC) et des cellules T régulatrices, qui contribuent à l'évasion immunitaire et la résistance à l'immunothérapie. Par conséquent, l'inhibition du trafic des MDSC et des cellules Treg vers la tumeur à l'aide d'inhibiteurs spécifiques des récepteurs de chimiokines pourrait supprimer l'évasion immunitaire et améliorer les réponses des cellules T antitumorales.

Les sous-populations de MDSC expriment fortement le CCR1, le récepteur de chimiokine C-C 1 ou le CXCR2, le récepteur de chimiokine CXC 2. Leurs ligands respectifs, CCL5, CCL7 et CXCL8, sont libérés par les tumeurs et favorisent le recrutement de MDSCs positives pour CCR1 ou CXCR2. L'association de médicaments anti-PD-L1 et d'antagonistes du CCR1 a entraîné une réduction synergique de la charge tumorale dans des modèles précliniques de cancer du sein¹⁴². De plus, l'association d'un anti-CXCR2 et d'un anti-PD-1 a amélioré la survie dans un modèle de rhabdomyosarcome¹⁴³. De même, une amélioration significative de l'efficacité du traitement bloquant PD-1 a été observée chez des enfants atteints de sarcomes métastatiques ayant bénéficié d'un anticorps monoclonal anti-CXCR2¹⁴⁴.

Les cellules T régulatrices expriment des niveaux élevés de CCR4 dans le sang et les tumeurs. Par conséquent, l'association des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire et d'anti-CCR4 en vue d'inhiber le recrutement des cellules T régulatrices est prometteuse. En outre, les anti-CCR4 pourraient réduire davantage la population de cellules T régulatrices en favorisant la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps¹⁴⁵. Le mogamulisumab (anti-CCR4) en association avec le nivolumab (anti-PD-1, phase I/II)¹⁴⁶, le durvalumab (anti-PD-L1, phase I) et le tremelimumab (anti-CTLA-4, phase I)¹⁴⁷ ont été testés en clinique chez des patients atteints de diverses tumeurs solides avancées. Ces combinaisons offrent un profil de sécurité acceptable mais une activité antitumorale significative n'a été reportée qu'avec l'association du Nivolumab.

En résumé, les études précliniques indiquent le potentiel de l'inhibition du trafic des cellules T régulatrices ou des cellules suppressives myéloïdes en association avec les inhibiteurs de points de contrôle, mais des données supplémentaires sur l'efficacité clinique seront nécessaires.

V) COMBINAISONS AVEC DES STIMULATEURS DE L'INFILTRATION DES LYMPHOCYTES T (étape 5)

Une infiltration déficiente des cellules T peut contribuer à l'échappement immunitaire des tumeurs et à la résistance à l'immunothérapie. L'infiltration des cellules T peut être stimulée par des anti-VEGF, des agonistes des récepteurs de l'immunité innée et des agents immunomodulateurs afin de restaurer l'immunité anti-tumorale.

A) Le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire

Le facteur de croissance VEGF, qui favorise l'angiogenèse, régule à la baisse les molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales, limitant ainsi l'infiltration des cellules T à travers l'endothélium tumoral. Cependant, la fonction immunosuppressive du VEGF est plus complexe. Par exemple, le VEGF inhibe également la présentation des antigènes par les cellules dendritiques, favorise l'expansion des cellules T régulatrices et des cellules suppressives myéloïdes et régule à la hausse le PD-1 sur les cellules T infiltrées. L'augmentation des niveaux de VEGF est associée à une survie plus courte chez les patients atteints de mélanome avancé après un traitement anti-CTLA-4.

Dans ce contexte, une étude de phase I a été menée pour évaluer la combinaison d'un anti-VEGF (bevacizumab) et d'un anti-CTLA-4 (ipilimumab) chez des patients atteints de mélanome métastatique. Cette association a permis d'obtenir une infiltration élevée de cellules T CD8+ et un taux de contrôle de la maladie (DCR) de 67 % avec une tolérance favorable. Par ailleurs, une survie médiane observée de 25,1 mois¹⁴⁸ suggère un avantage substantiel par rapport à l'anti-CTLA4 seul (10 mois de survie médiane).

On recherche actuellement des combinaisons qui pourraient mettre en synergie les anticorps anti-PD-1/PD-L1 avec le blocage du VEGF pour une efficacité encore plus grande. Dans des études précliniques, l'association d'un traitement anti-VEGF et d'un anti-PD-1 s'est avérée plus efficace que les monothérapies dans un modèle murin de carcinome CT26¹⁴⁹. De plus, les données cliniques préliminaires d'un essai de phase I combinant un anti-PD-1 (nivolumab) avec le sunitinib, un inhibiteur du VEGFR, ou avec un inhibiteur multikinase du VEGFR (pazopanib) sont prometteuses¹⁵⁰.

Enfin, les thérapies combinées avec les anti-VEGF pourraient apporter un avantage substantiel aux patients en termes de survie, mais la prudence est de mise en raison de la toxicité rénale des inhibiteurs du VEGF.

B) Les modulations épigénétiques

Comme nous l'avons vu aux chapitres 1 et 2, la suppression épigénétique de gènes liés à l'immunité par l'hyperméthylation peut contribuer à l'évasion immunitaire au cours de la progression tumorale. Ainsi, les agents hypométhylants, notamment l'azacitidine (AZA) et la 5-aza-2'-déoxycytidine (5AZA2), inhibiteurs nucléosidiques de la méthylation de l'ADN, peuvent être utilisés pour rétablir l'expression des gènes. Par ailleurs, la plupart des médicaments épigénétiques ne présentent qu'une toxicité mineure aux doses cliniques.

Dans un modèle de lymphome, l'expression de CD80 sur les cellules tumorales, induite par la déméthylation consécutive au traitement par 5AZA2, a favorisé l'infiltration de cellules T CD8+ dans la tumeur¹⁵¹. Ainsi, l'inhibition de la méthylation pourrait être envisagée afin de promouvoir l'infiltration des lymphocytes T dans les tumeurs.

La synergie de l'ipilimumab et du nivolumab avec la 5-azacytidine (inhibiteur de DNMT) et l'entinostat (inhibiteur d'HDAC) a été étudiée dans des modèles murins de carcinome. Cela a permis d'éradiquer 100 % des tumeurs mammaires métastatiques et plus de 90 % des carcinomes colorectaux en entraînant une forte infiltration de cellules T CD4+ et CD8+¹⁵². La 5-azacytidine a également réduit l'activité des cellules T régulatrices et amélioré la présentation des antigènes tumoraux, renforçant l'immunité anti-tumorale. Par conséquent, les combinaisons d'inhibiteurs de la DNMT et de bloqueurs de PD-1 font l'objet d'essais cliniques en cours contre la leucémie myéloïde aigue, le cancer bronchique non à petites cellules ainsi que d'autres tumeurs malignes.

Une étude récente a montré qu'un inhibiteur d'histone désacétylase, le mocetinostat, augmentait les niveaux d'expression des gènes codant pour PD-L1 et les molécules de CMH. Dans un modèle tumoral de souris, le mocetinostat a diminué les MDSC et les cellules T régulatrices et a simultanément augmenté les cellules T CD8+ intratumorales. L'association de l'anti-PD-L1 et du mocetinostat a augmenté l'activité antitumorale par rapport aux monothérapies dans deux modèles de carcinome épidermoïde de la tête et du cou¹⁵³.

Nous avons abordé le rôle immunosuppresseur de l'histone méthylase EZH2 au chapitre 1 et 2. EZH2 maintient l'activité immunosuppressive des cellules T régulatrices et empêche l'infiltration des cellules T CD8+ et T CD4+ dans la tumeur. De plus, l'immunothérapie favorise l'activité d'EZH2, réduisant la présentation des antigènes et entraînant ainsi une résistance.

L'inhibition pharmacologique de l'EZH2 dans les cellules T humaines a provoqué des altérations fonctionnelles des cellules T régulatrices et a renforcé l'activité cytotoxique des cellules T effectrices. Enfin, deux études ont confirmé les effets synergiques de l'immunothérapie anti-CTLA-4 et de l'inhibition d'EZH2 dans la suppression de la croissance des mélanomes¹⁵⁴.

Le ciblage des altérations épigénétiques avec des inhibiteurs spécifiques en combinaison avec les inhibiteurs de point de contrôle peut donc être un moyen efficace pour surmonter la résistance thérapeutique aux inhibiteurs de points de contrôle, car ils ouvrent des structures chromatiniennes autrement fermées associées à une résistance thérapeutique.

Nous concluons ici que, bien que plusieurs approches combinant des inhibiteurs de points de contrôle avec des stimulateurs d'infiltration des cellules T aient été essayées, les connaissances sur leur efficacité sont encore limitées et des études supplémentaires sont nécessaires.

VI) COMBINAISONS AVEC DES STIMULATEURS DE RECONNAISSANCE DES ANTIGÈNES (étape 6)

Afin de stimuler la reconnaissance des antigènes tumoraux par les lymphocytes T, qui peut échouer dans les tumeurs faiblement infiltrées, le transfert cellulaire adoptif constitue une autre approche prometteuse. Cette stratégie d'immunothérapie consiste à cultiver des biopsies de tumeurs in vitro, à sélectionner les lymphocytes infiltrant les tumeurs en fonction de leur spécificité tumorale et à réinjecter les cellules réactives à la tumeur chez le patient. Les cellules T modifiées génétiquement pour exprimer CAR, un récepteur d'antigène chimérique spécifique d'un antigène, peuvent également être utilisées contre des antigènes tumoraux spécifiques. Cependant, un microenvironnement tumoral immunosuppresseur et l'absence d'infiltration suffisante de cellules T dans la tumeur peuvent limiter le succès du transfert cellulaire adoptif chez certains patients.

Jusqu'à présent, des résultats prometteurs ont été obtenus avec les thérapies à base de cellules CAR T seules notamment dans la leucémie lymphoblastique aigue, le mélanome et le lymphome à cellules B avancé. Deux thérapies CAR-T déjà été approuvées par la FDA, KymriahTM et YescartaTM en raison de leurs résultats dans leucémie lymphoblastique aiguë à cellules B¹⁵⁵ et dans le lymphome non hodgkinien (LNH) agressif réfractaire et le myélome multiple. En revanche, les thérapies cellulaires adoptives (ACT) se sont malheureusement révélées inefficaces contre les tumeurs solides, induisant souvent des effets secondaires potentiellement mortels tels que le syndrome de libération de cytokines et la détresse respiratoire.

Néanmoins, des résultats prometteurs ont été obtenus dans des essais précliniques utilisant des modèles murins transgénique Her2 de cancer du sein. L'ajout d'un inhibiteur de PD-1 a stimulé la fonction et la prolifération des cellules CAR T spécifiques de Her2, avec une meilleure régression, par rapport à l'administration de cellules CAR T seules¹⁵⁶. Par ailleurs, la combinaison de la thérapie ACT avec des anti-PD-1, anti-PD-L1 ou anti-CTLA4 a réduit de manière synergique la croissance tumorale dans des modèles précliniques de carcinome et de mélanome. La thérapie combinée a augmenté la prolifération, l'activité cytotoxique et la production d'IFN-gamma des cellules T dans les tumeurs, ce qui a entraîné une régulation à la hausse des chimiokines (telles que CXCL10) et une infiltration supplémentaire des cellules T. Par conséquent, la thérapie cellulaire adoptive par cellules T suivie de l'utilisation d'inhibiteurs de points de contrôle immunitaires pourrait conduire à une régression complète de la tumeur dans de nombreuses populations cliniques. L'association de la thérapie cellulaire adoptive et de l'anti-CTLA-4 fait actuellement l'objet d'un essai de phase II chez des patients atteints de mélanome métastatique¹⁵⁷. Étant donné que les anti-PD-1 et les anti-CTLA-4 favorisent l'infiltration intratumorale des cellules T, le blocage des points de contrôle immunitaire avant la thérapie cellulaire adoptive peut augmenter le nombre de lymphocytes infiltrant la tumeur pouvant exercer leur action effectrice antitumorale.

En résumé, bien que les données cliniques soient actuellement insuffisantes, l'application d'un blocage des points de contrôle immunitaires avant ou après la thérapie cellulaire adoptive (ACT) est une approche prometteuse.

VII) COMBINAISONS QUI AUGMENTENT L'ÉLIMINATION DES TUMEURS (étape 7)

Comme nous l'avons vu, les cellules tumorales peuvent échapper à l'élimination par l'expression de PD-L1, car l'interaction de PD-L1 avec PD-1 inhibe la sécrétion de médiateurs cytotoxiques par les cellules T CD8+. De plus, d'autres molécules exprimées sur les cellules tumorales ou les cellules présentatrices d'antigènes peuvent limiter cette élimination, comme l'IDO (indoleamine 2,3-dioxygénase), ou les médiateurs immunosuppresseurs accumulés dans l'environnement tumoral, comme l'adénosine et le TGF- β (le facteur de croissance transformant β).

A) Adénosine

En se liant aux récepteurs A2A sur les cellules T, l'adénosine inhibe leur prolifération et leur cytotoxicité. En outre, l'adénosine peut favoriser directement les métastases en interagissant avec les récepteurs A2B des cellules tumorales.

Ainsi, dans des modèles précliniques de mélanome et de cancer du sein, la combinaison d'antagonistes des récepteurs A2A et d'anti-PD-1 ou d'anti-CTLA-4 a inhibé de manière synergique la croissance tumorale¹⁵⁸. La sécurité et la tolérabilité d'une thérapie combinée avec un anti-PD-L1 (atezolizumab) et un antagoniste des récepteurs A2A (CPI-444) ont été étudiées dans un essai de phase I portant sur des cancers avancés¹⁵⁹. Les résultats témoignent d'une bonne tolérance et d'une activité antitumorale significative.

L'adénosine est formée par la déphosphorylation de l'AMP (adénosine monophosphate) par l'ecto-enzyme CD73. Le CD73 est donc lui-même associé à des effets immunosuppresseurs et métastatiques. De plus, le CD73 stimule l'angiogenèse en régulant la sécrétion du facteur de croissance endothélial vasculaire par les cellules cancéreuses. Par conséquent, une expression élevée de l'enzyme CD73 est associée à un mauvais pronostic dans divers types de cancers.

Ainsi, le traitement combiné par anti-CD73 et anti-CTLA-4 ou anti-PD-1 a amélioré l'activité antitumorale dans des modèles de cancer du côlon, de la prostate et de cancer du sein métastatique¹⁶⁰. La combinaison d'un anticorps CD73 et d'un anticorps PD-L1 (durvalumab) fait actuellement l'objet d'une étude de phase 1 chez des patients atteints de tumeurs solides avancées¹⁶¹.

Suite au succès des études précliniques, les approches combinées avec les antagonistes des récepteurs A2A et les anti-CD73 sont actuellement étudiées en pratique clinique pour améliorer l'élimination des tumeurs.

B) Facteur de croissance transformant- β

Le TFG- β peut également favoriser l'immunosuppression en stimulant les cellules T régulatrices.

Dans le cadre préclinique, la combinaison d'un anti CTLA-4 et d'un inhibiteur de la kinase du récepteur TFG- β a inhibé de manière synergique la croissance de la tumeur primaire et les métastases dans des modèles de mélanome¹⁶².

L'association d'un anti-PD-1 (nivolumab) ou d'un anti-PD-L1 (durvalumab) avec un inhibiteur de kinase du récepteur TFG- β (galunisertib) a été testée cliniquement chez des patients atteints de cancer du pancréas métastatique (phase I)¹⁶³, de cancer du poumon, de carcinome hépatocellulaire ou de glioblastome (phase I/II)¹⁶⁴. Ainsi, les résultats positifs de ces études cliniques démontreront que les approches combinées avec les inhibiteurs de la kinase du récepteur TGF- β peuvent inverser l'insensibilité au traitement anti-PD1 dans diverses tumeurs.

C) Indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO)

La présence de l'enzyme IDO, qui dégrade le tryptophane, dans les cellules présentatrices d'antigènes et les cellules cancéreuses peut également limiter l'efficacité du blocage de CTLA-4 et PD-1, car la prolifération des lymphocytes T nécessite du tryptophane. Par conséquent, plusieurs études précliniques ont montré que l'association d'anticorps anti-CTLA-4 ou anti-PD-L1 et de l'inhibition de l'IDO favorise la survie.

Dans un modèle murin de tumeur stromale gastro-intestinale, l'imatinib (un inhibiteur de tyrosine kinase à large spectre) a été associé à un anti-CTLA-4 pour bloquer l'immunosuppression des cellules T médiée par l'indoleamine 2,3-dioxygénase (IDO). Une activité synergique a été signalée, réduisant la population de cellules T régulatrices et augmentant l'infiltration de la tumeur par les cellules T CD8+, le tout conduisant à une réduction significative du volume des tumeurs comparé au blocage de CTLA-4 ou de l'administration d'imatinib seul¹⁶⁵.

Les premières données cliniques sur l'association d'un agent anti-PD-1 (pembrolizumab) et d'un inhibiteur d'IDO1 (épacadostat) montrent une sécurité et une efficacité prometteuses dans des essais de phase I et de phase II pour le traitement de plusieurs types de cancers avancés, notamment le mélanome, le carcinome à cellules rénales et le cancer du poumon non à petites cellules¹⁶⁶. L'épacadostat associé au pembrolizumab dans le traitement du mélanome métastatique et a permis d'obtenir 74 % de taux de contrôle de la maladie et 53 % de taux de réponse globale, avec seulement 5 % d'Événements indésirables liés au système immunitaire (irAE)¹⁶⁷. Il a également montré une activité antitumorale prometteuse chez les patients atteints de mélanome avancé en combinaison avec un anti-PD-1 (nivolumab).

Toujours dans le mélanome avancé, une étude de phase 2 sur l'association synergique de l'indoximod (un autre inhibiteur de l'IDO) et du pembrolizumab a permis d'obtenir

une réponse complète ou partielle chez plus de la moitié des patients, avec une toxicité négligeable¹⁶⁸. Un profil de sécurité supérieur a été rapporté avec la combinaison avec le blocage de CTLA-4, par rapport à PD-1¹⁶⁹.

Les études précliniques et les premières études cliniques impliquant l'inhibition de l'IDO ont donc donné des résultats prometteurs. Cependant, il serait pertinent de cibler spécifiquement les patients dont les tumeurs présentent une forte expression de l'IDO, l'inhibition de l'IDO étant alors particulièrement efficace. Enfin, le triple blocage des points de contrôle immunitaire CTLA-4, PD-1 et IDO pourrait encore améliorer la réponse antitumorale, mais il est peu probable que cette approche améliore l'efficacité par rapport au double blocage des points de contrôle dans les tumeurs avancées.

Pour conclure, divers essais cliniques étudient actuellement des approches combinées pour renforcer l'élimination des tumeurs par les cellules T, mais à ce jour, les données cliniques sur la sécurité et l'efficacité sont encore limitées.

VIII) PERSONNALISATION DE L'IMMUNOTHERAPIE

Nous venons d'évoquer les différentes approches combinatoires qui ont été étudiées pour tenter de surmonter les mécanismes de résistance aux différentes étapes du cycle immunitaire antitumoral dans l'espoir de maximiser la réponse clinique aux thérapies par inhibiteurs de points de contrôle. La personnalisation de l'immunothérapie cherche à choisir un régime d'immunothérapie à agent unique ou à combinaison adapté à un patient particulier. Sur la base des interactions cancer-immunité, le microenvironnement de la tumeur peut être divisé en trois phénotypes¹⁷⁰. Chaque phénotype est associé à des mécanismes de résistance sous-jacents spécifiques qui empêchent l'éradication de la tumeur par la réponse immunitaire de l'hôte. Par conséquent, une évaluation minutieuse de chaque étape du cycle de l'immunité antitumorale permettra de déterminer quels sont les facteurs inhibiteurs prédominants et d'orienter le choix des thérapies spécifiques en conséquence.

Nous rappellerons préalablement qu'une tumeur solide est composée de deux compartiments, le parenchyme tumoral et le stroma tumoral. Le parenchyme est constitué de cellules néoplasiques (cellules tumorales), et le stroma induit par les cellules néoplasiques est la structure de support, nécessaire au soutien nutritionnel et à l'élimination des déchets. Le stroma tumoral se compose principalement d'une membrane basale, des fibroblastes, de la matrice extracellulaire, des cellules immunitaires et du système vasculaire.

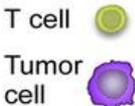
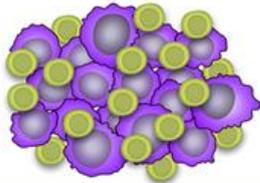
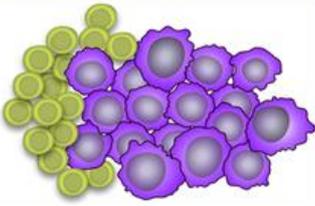
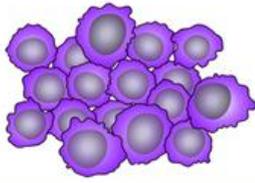
	Immune-Inflamed	Immune-Excluded	Immune-Desert
			
Definition	High degree of cytotoxic T cell infiltration	Presence of T cells at invasive margin; absent in tumor bed	Absence of T cells within tumor and at margins
Mechanism of immune evasion	<ul style="list-style-type: none"> • Checkpoint activation • T cell exhaustion 	<ul style="list-style-type: none"> • Stromal barriers • Aberrant vasculature • Lack of chemokines • Oncogenic pathways • Hypoxia 	<ul style="list-style-type: none"> • Insufficient priming • Defects in antigen presentation • Lack of antigen

Figure 15 : Phénotypes immunitaires des tumeurs, Anandappa AJ, Wu CJ, Ott PA. Directing Traffic: How to Effectively Drive T Cells into Tumors. Cancer Discovery. 2020 Feb

A) Les tumeurs de désert immunitaire :

Les tumeurs immuno-désertes sont caractérisées par la rareté de cellules T dans le parenchyme ou le stroma tumoral (Figure 15, colonne de droite), ce qui est dû à l'absence d'immunogénicité, de présentation des antigènes, ou à l'absence d'amorçage ou d'activation adéquate des cellules T. Ainsi, la production de cellules T spécifiques de la tumeur est une étape limitante de la réponse anti-tumorale dans le phénotype d'immunodépression. Il est donc nécessaire d'estimer l'immunogénicité de la tumeur. Pour les tumeurs faiblement immunogènes, les traitements conventionnels sont recommandés, tels que la chimiothérapie, la radiothérapie et les thérapies ciblées afin de favoriser la libération des antigènes associés au cancer. Cela va permettre d'améliorer la présentation des antigènes.

Ensuite, si l'état immunitaire du patient ne permet pas d'achever la présentation de l'antigène et l'amorçage et l'activation des lymphocytes T, les stratégies suivantes peuvent être utilisées pour activer les lymphocytes T :

- Les vaccins multi-peptides peuvent être utilisés pour surmonter les défauts de présentation de l'antigène ;
- les anticorps anti-CTLA-4 et les inhibiteurs de points de contrôle de nouvelle génération peuvent aider à activer les cellules T ;
- la thérapie adoptive par cellules T sera également un choix pour le type de tumeur immunodéserte afin stimuler la reconnaissance des antigènes tumoraux par les lymphocytes T
- L'inhibition stromale par le biais des médicaments agissant sur le microenvironnement tumoral comme les inhibiteurs TGF beta, les inhibiteurs d'IDO et d'adénosine ou encore les thérapies anti-VEGF peuvent aussi coexister dans les tumeurs immunodésertes afin de stimuler l'activation des lymphocytes T et la destruction des cellules tumorales.

La thérapie combinée pour activer les cellules T, amener des cellules T spécifiques dans les tumeurs, puis éviter qu'elles ne soient inhibées peut être considérée même dans le cas où les tumeurs n'expriment pas PDL1. En effet, l'association d'anti-CTLA-4 et d'anti-PD-1 s'est révélée utile dans les tumeurs tant PD-L1-positives que PD-L1-négatives, probablement grâce à son effet inducteur de points de contrôle. Par conséquent, un traitement combiné de blocage des points de contrôle pourrait être utilisé contre l'ignorance immunitaire des tumeurs n'exprimant PDL1.

B) Les tumeurs exclues du système immunitaire :

Dans les tumeurs exclues du système immunitaire, les cellules immunitaires ne peuvent pas pénétrer dans le parenchyme tumoral et restent dans le stroma (Figure 15, colonne du milieu : les cellules T sont absentes du lit de la tumeur), ce qui indique la présence de barrières vasculaires particulières ou un état spécifique des chimiokines, voire d'un environnement hypoxique. Il pourrait donc y avoir une réponse immunitaire antitumorale préexistante, mais rendue inefficace par le manque d'infiltration des lymphocytes T dans le stroma de ces tumeurs. La rareté des réponses cliniques obtenues dans ce type de tumeurs avec les traitements à base d'anticorps anti-PD-1/PD-L1 et CTLA-4 seuls s'expliquent par le fait que ces derniers peuvent augmenter l'activation et la prolifération des cellules T associées au stroma, mais pas leur infiltration. Par conséquent, les approches associant simultanément des inhibiteurs de points de contrôle à des thérapies anti-angiogénèse (anti-VEGF) ou à des thérapies anti-stroma spécifiques pour faciliter l'infiltration des cellules T, telles que les inhibiteurs de CCR4, d'IDO ou d'EZH2, peuvent être adaptées pour ces tumeurs.

Les tumeurs de désert immunitaire et les tumeurs exclues du système immunitaire exprimant PDL1 peuvent expliquer pourquoi certaines tumeurs PD-L1+ ne peuvent pas bénéficier d'une monothérapie anti-PD-1/PD-L1.

C) Les tumeurs immunitaires enflammées :

Pour le phénotype immunitaire enflammé, c'est dans les deux dernières étapes du cycle de l'immunité contre le cancer que réside le blocage. Les divers sous-types de cellules immunitaires, les cellules immunitaires immuno-activées et les cellules inhibitrices ont infiltré la tumeur et se retrouvent à proximité des cellules tumorales (Figure 15, colonne de gauche). Seulement une inhibition de la réponse immunitaire à la tumeur préexistante a lieu. L'étape suivante consiste à déterminer si les lymphocytes T reconnaissent les cellules tumorales et s'il existe des points de contrôle inhibiteurs et des cellules immunosuppressives qui inhibent l'activité des lymphocytes T.

Les tumeurs immunitaires enflammées positives à la PDL1 peuvent bénéficier d'un blocage anti-PD-1/L1 en monothérapie, car l'engagement de PD-L1 inactive les cellules T préexistantes dans ces tumeurs. Si ce sous-type de tumeur est correctement identifié, les inhibiteurs de points de contrôle pourraient être utilisés en monothérapie dans certains groupes de patients, évitant ainsi les coûts élevés et les effets secondaires des traitements combinés.

D'autres voies suppressives pourraient être dominantes dans les tumeurs immuno-inflammées PDL1-; ainsi, il pourrait être approprié de cibler d'autres récepteurs de

points de contrôle non-PD-1/PD-L1 ou d'autres voies immunosuppressives, comme l'IDO. Par ailleurs, ce type de tumeur pourrait également bénéficier de la thérapie cellulaire adoptive qui agirait en renfort des lymphocytes déjà présents dans l'environnement tumoral.

Enfin, l'association des inhibiteurs de points de contrôle avec les thérapies antitumorales traditionnelles pour les trois phénotypes doit être envisagée lorsque cela est approprié, car la chimiothérapie, la radiothérapie et les thérapies ciblées sont non seulement des traitements de première intention pour de nombreux cancers, mais peuvent également avoir des effets immunomodulateurs par différents mécanismes. Par ailleurs, ces stratégies combinées ont donné des résultats favorables dans les essais cliniques.

D) Les tests de diagnostic compagnons

En évaluant les biomarqueurs prédictifs identifiés, les tests de diagnostic compagnons permettent d'estimer le phénotype tumoral, de sélectionner les patients répondant aux inhibiteurs de points de contrôle et de guider les stratégies thérapeutiques combinées. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour identifier ces biomarqueurs, nous prendrons l'exemple de la détection de l'instabilité des microsatellites (MSI) ou du défaut de réparation de l'ADN (dMMR).

Les deux méthodes les plus courantes sont le séquençage Sanger et l'immunohistochimie (IHC). Le séquençage de Sanger, la méthode de référence pour la détection des dMMR, utilise la réaction en chaîne par polymérase (PCR), une technique de laboratoire courante qui consiste à produire des millions de copies d'une région particulière de l'ADN. Des fragments de la tumeur sont ainsi amplifiés et séparés par taille à l'aide d'une électrophorèse capillaire. Les changements de taille des fragments causés par des bases non appariées indiquent un défaut de la fonction de réparation des mésappariements et une instabilité des microsatellites.

D'autre part, la présence ou l'absence des protéines MMR peut être détectée à l'aide de l'immunohistochimie (IHC), une technique histologique qui utilise des anticorps marqués, spécifiques des protéines, pour détecter les protéines dans les échantillons de tissus. L'IHC est un dépistage de première ligne indirect mais fiable et rentable de la déficience en ADN MMR.

Enfin, l'instabilité des microsatellites peut être analysée par NGS (New Generation Sequencing ou séquençage de nouvelle génération). Cette technologie de séquençage repose principalement sur des principes similaires à ceux du séquençage Sanger traditionnel par électrophorèse capillaire. Des nucléotides marqués par un colorant sont ajoutés par l'ADN polymérase, et les couleurs sont utilisées pour lire la séquence. Seulement, les techniques NGS peuvent séquencer l'équivalent d'un génome d'ADN entier en une seule expérience. Pour cela, il faut exécuter des millions de PCR en même temps et observer quelle base est ajoutée dans chacune de ces réactions indépendantes. Cette technique permet de déterminer les séquences des microsatellites, puis de les comparer à des tissus normaux appariés. Les différences de longueur de séquence des microsatellites indiquent une instabilité. Le NGS utilise des algorithmes pour déterminer si le degré d'instabilité détecté est significatif et attribue ensuite le statut MSI-H (microsatellite instable) ou MSS (microsatellite stable). Le séquençage de nouvelle génération (NGS) est une technologie de séquençage parallèle massive qui offre un débit et une vitesse très élevés. Sur la base de cette méthode de séquençage de nouvelle génération, le dispositif de diagnostic *in vitro* FoundationOne CDx mis au point par Foundation Medicine a récemment été approuvé par la FDA pour identifier les patients atteints de cancers à forte instabilité des microsatellites (MSI) qui pourraient être candidats à un traitement par pembrolizumab (Keytruda). Ce test avait déjà été approuvé pour identifier les patients atteints de tumeurs solides à forte charge mutationnelle¹⁷¹. Recourant également aux méthodes

de séquençage de nouvelle génération, Illumina et Kartos Therapeutics se sont associés pour co-développer un diagnostic compagnon (CDx) TP53 pour un certain nombre d'indications hématologiques et cancéreuses¹⁷². Nous rappelons que des travaux exploratoires suggèrent que les patients cancéreux présentant des co-mutations dans TP53 et KRAS bénéficieraient davantage d'un traitement anti-PD-1. Par ailleurs, Roche a participé au développement du test cobas® KRAS Mutation, un test PCR en temps réel pour la détection et l'identification des mutations de KRAS¹⁷³. Enfin, parmi les tests d'immunohistochimie, la FDA a récemment approuvé le test PD-L1 IHC 22C3 pharmDx développé par Agilent Technologies pour aider à identifier les patientes atteintes d'un cancer du sein triple négatif qui peuvent recevoir l'inhibiteur PD-1 pembrolizumab (Keytruda). Auparavant, ce test avait également été approuvé pour identifier la positivité du PD-L1 chez les patients atteints de cancer du poumon non à petites cellules, de carcinome épidermique de l'œsophage, d'adénocarcinome de l'estomac, de carcinome urothélial, de cancer du col de l'utérus et de carcinome épidermique de la tête et du cou.

Ces tests de diagnostic compagnons permettent non seulement d'améliorer la prise en charge et la qualité de vie des patients atteints de cancer, mais aussi de réduire leurs coûts.

À l'avenir, l'utilisation plus large de ces tests et l'arrivée sur le marché de nouveaux tests, parallèlement à la démocratisation des méthodes de séquençage de nouvelle génération moins coûteuses, amélioreront encore la configuration des immunothérapies anticancéreuses et des stratégies de combinaison.

CONCLUSION

Avec l'essor des applications des inhibiteurs de points de contrôle dans le traitement du cancer, une préoccupation clinique serait de laisser de côté certains patients qui pourraient répondre à ces thérapies. Dans le même temps, il convient d'éviter tout traitement inapproprié ou excessif de patients avec des inhibiteurs de points de contrôle, compte tenu de leur efficacité limitée à un sous-ensemble de malades, de leur toxicité et de leur coût élevé.

Cette énigme peut être résolue en identifiant des biomarqueurs prédictifs fiables des réponses cliniques aux inhibiteurs de points de contrôle. Nous avons passé en revue différents biomarqueurs immunologiques, génétiques, épigénétiques ou microbiologiques impliqués dans les différentes étapes du cycle immunitaire du cancer qui peuvent aider à prédire son évolution et la réponse aux inhibiteurs de points de contrôle. Si certains biomarqueurs tels que l'expression du PD-L1 sur les cellules immunitaires infiltrant la tumeur, l'instabilité des microsatellites et la déficience du système de réparation des mésappariements de l'ADN sont désormais intégrés dans la prise de décision clinique, il reste encore beaucoup à faire pour améliorer la prédictibilité et la fiabilité des biomarqueurs.

D'autre part, les résultats publiés de l'inhibition de PD-1/PDL1 et CTLA-4 montrent une efficacité initiale suivie d'une rechute due à la résistance aux immunothérapies. Nous avons mis en évidence certains mécanismes de résistance intrinsèque et extrinsèque aux tumeurs impliqués dans les différentes étapes du cycle de l'immunité antitumorale conduisant à cette perte d'efficacité des inhibiteurs de checkpoint, notamment la régulation constitutive et adaptative de PD-1, les anomalies de la bêta-2-microglobuline ou, plus globalement, la présence d'un environnement tumoral immunosuppresseur intégrant les différents mécanismes à l'origine des troubles de l'activation des lymphocytes T.

L'étude de ces biomarqueurs de réponse et des mécanismes de résistance, liés à différents processus impliqués dans la fonction des cellules immunitaires, nous a permis de mieux appréhender les différentes approches combinées au blocage des checkpoints immunitaires permettant de lever un second verrou d'inactivation à chaque étape du cycle cancer-immunité et d'amplifier davantage les réponses immunitaires antitumorales. Les approches les plus prometteuses associent les inhibiteurs de points de contrôle à la radiothérapie, à la vaccination, aux anti-VEGF ou à de nouveaux points de contrôle immunitaires et sont actuellement étudiées dans des modèles précliniques et, dans certains cas, chez l'homme.

Enfin, pour que ces approches combinées soient efficaces, elles doivent être soigneusement configurées pour ne pas neutraliser aveuglément les mécanismes de rétroaction négative qui contrôlent les activités inflammatoires et auto-immunes, et pour tenter de faire bénéficier les patients de soins optimaux. À cette fin, nous avons proposé une classification immunitaire du microenvironnement tumoral en lien avec les biomarqueurs et les mécanismes précédemment étudiés, qui élucide partiellement l'hétérogénéité tumorale et stratifie efficacement les patients en différentes catégories en fonction du phénotype de leur tumeur, à savoir les phénotypes tumoraux de désert immunitaire, d'exclusion immunitaire et d'inflammation immunitaire.

Cependant, cette approche présente encore certaines limites. En effet, les multiples composantes du microenvironnement tumoral qui peuvent conduire à l'immunosuppression nécessitent une approche multidimensionnelle. Les cellules tumorales et le microenvironnement tumoral sont en dialogue dynamique continu pendant le traitement, ce qui rend difficile l'évaluation de la réponse au traitement sur la base des caractéristiques du microenvironnement. De même, les mécanismes qui sous-tendent la croissance et la progression des tumeurs ainsi que la réponse et la résistance à l'immunothérapie sont associés à des processus pathologiques complexes et systémiques dont les interactions et les fonctions conjointes restent floues, ce qui rend la dissociation du corps humain de l'environnement tumoral difficile. Cette corrélation devra encore être étudiée et résumée clairement afin que les stratégies combinées puissent être conçues plus efficacement. Par conséquent, une telle évaluation du microenvironnement tumoral et la mise en œuvre d'une thérapie personnalisée restent compliquées à l'heure actuelle.

Une autre limite de notre étude provient de l'état précoce de la recherche sur laquelle nous avons basé nos conclusions en termes d'évaluation des biomarqueurs, de mécanismes de résistance ou d'approches combinées. Ces conclusions doivent donc être considérées à la lumière du manque éventuel de preuves cliniques solides sur lesquelles elles sont fondées.

À l'avenir, nous espérons que l'approche personnalisée sera rendue possible par les avancées de la recherche fondamentale et biomédicale guidant la conception d'études précliniques et cliniques pertinentes, accompagnées des progrès des technologies de diagnostic et des efforts déployés dans la recherche translationnelle.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ Selon l'ANSM (Agence nationale du médicament et des produits de santé)
- ² Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell*. 2017;168(4):707-723. doi:10.1016/j.cell.2017.01.017
- ³ Selon la HAS (Haute Autorité de Santé)
- ⁴ Selon la HAS (Haute Autorité de Santé)
- ⁵ Selon la HAS (Haute Autorité de Santé)
- ⁶ Selon le Leem
- ⁷ Selon le Leem
- ⁸ Selon l'INSERM
- ⁹ Selon le ministère de la Santé et de la Prévention
- ¹⁰ Tseng, D., Schultz, L., Pardoll, D., & Mackall, C. L. (2019). Cancer Immunology. In *Abeloff's Clinical Oncology* (pp. 84-96.e5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47674-4.00006-2>
- ¹¹ Pardoll, D., 2014. Cancer Immunology, in: *Abeloff's Clinical Oncology*. Elsevier, pp. 78-97.e5. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2865-7.00006-0>
- ¹² Renato Micelli Lupinacci. Caractérisation anatomo-clinique et phénotypique des adénocarcinomes canaux du pancréas avec instabilité des microsatellites. *Cancer*. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2017. Français. ffNNT : 2017PA066311ff. fftel-01720460f
- ¹³ Cancer Immunotherapy with Vaccines and Checkpoint Blockade, in: *The Molecular Basis of Cancer*. Elsevier, pp. 709-738.e8. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4066-6.00052-4>
- ¹⁴ Tseng, D., Schultz, L., Pardoll, D., & Mackall, C. L. (2019). Cancer Immunology. In *Abeloff's Clinical Oncology* (pp. 84-96.e5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-47674-4.00006-2>
- ¹⁵ Buchbinder, E.I., Desai, A., 2016. Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *American Journal of Clinical Oncology*
- ¹⁶ Cancer Immunotherapy with Vaccines and Checkpoint Blockade, in: *The Molecular Basis of Cancer*. Elsevier, pp. 709-738.e8. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4066-6.00052-4>
- ¹⁷ Iwai, Yoshiko et al. "Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway." *Journal of biomedical science* vol. 24,1 26. 4 Apr. 2017, doi:10.1186/s12929-017-0329-9
- ¹⁸ Lesterhuis, W Joost et al. "Cancer immunotherapy--revisited." *Nature reviews. Drug discovery* vol. 10,8 591-600. 1 Aug. 2011, doi:10.1038/nrd3500
- ¹⁹ Chen, D.S., Mellman, I., 2013. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity* 39, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012>
- ²⁰ American Cancer Society : Immune checkpoints Inhibitors to treat cancer
- ²¹ Farkona, Sofia, Eleftherios P. Diamandis, και Ivan M. Blasutig. 'Cancer Immunotherapy: The Beginning of the End of Cancer?' *BMC medicine* 14.1 (2016): 73.

-
- ²² Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2015; 372:2521–32.
- ²³ Shen, Hongxing et al. “Predictive biomarkers for immune checkpoint blockade and opportunities for combination therapies.” *Genes & diseases* vol. 6,3 232-246. 3 Jul. 2019, doi:10.1016/j.gendis.2019.06.006
- ²⁴ Rizvi, Naiyer A. κ.ά. ‘Cancer Immunology. Mutational Landscape Determines Sensitivity to PD-1 Blockade in Non-Small Cell Lung Cancer’. *Science (New York, N.Y.)* 348.6230 (2015): 124–128.
- ²⁵ Gubin, Matthew M. κ.ά. ‘Checkpoint Blockade Cancer Immunotherapy Targets Tumour-Specific Mutant Antigens’. *Nature* 515.7528 (2014): 577–581.
- ²⁶ van Rooij, Nienke κ.ά. ‘Tumor Exome Analysis Reveals Neoantigen-Specific T-Cell Reactivity in an Ipilimumab-Responsive Melanoma’. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 31.32 (2013): e439-42.
- ²⁷ Topalian, Suzanne L et al. “Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy.” *Nature reviews. Cancer* vol. 16,5 (2016): 275-87. doi:10.1038/nrc.2016.36
- ²⁸ Garon E, et al. Pembrolizumab for the treatment of non–small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015; 372:2018–2028.
- ²⁹ Snyder A, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371:2189–2199.
- ³⁰ Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, et al. Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers. *Mol Cancer Ther*. 2017;16(11): 2598e2608.
- ³¹ Rosenberg JE et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 387, 1909–1920 (2016).
- ³² Seiwert TY et al. Biomarkers predictive of response to pembrolizumab in head and neck cancer (HNSCC). *Cancer Res* 73, LB–339 (2018).
- ³³ Rizvi NA et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 348, 124–128 (2015).
- ³⁴ Chen, Robert κ.ά. ‘Phase II Study of the Efficacy and Safety of Pembrolizumab for Relapsed/Refractory Classic Hodgkin Lymphoma’. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 35.19 (2017): 2125–2132.
- ³⁵ McDermott, David F. κ.ά. ‘Clinical Activity and Molecular Correlates of Response to Atezolizumab Alone or in Combination with Bevacizumab versus Sunitinib in Renal Cell Carcinoma’. *Nature medicine* 24.6 (2018): 749–757. Web.
- ³⁶ Germano G et al. Inactivation of DNA repair triggers neoantigen generation and impairs tumour growth. *Nature* 552, 116–120 (2017). [PubMed: 29186113]
- ³⁷ Le DT, et al. PD-1 Blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med*. 2015; 372:2509–2520. This is the first report linking a genetic marker in cancer (MSI) with clinical outcomes following anti-PD1 therapy. [PubMed: 26028255]
- ³⁸ Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017;357(6349):409e413.
- ³⁹ Overacre-Delgoffe AE, Chikina M, Dadey RE, Yano H, Brunazzi EA, Shayan G, et al. Interferon-gamma drives Treg fragility to promote anti-tumor immunity. *Cell*. 2017;169:1130–41 e1111.
- ⁴⁰ Boutsikou E, Domvri K, Hardavella G, Tsiouda D, Zarogoulidis K, Kontakiotis T. Tumour necrosis factor, interferon-gamma and interleukins as predictive markers of antiprogrammed cell-death protein-1 treatment in advanced non-small cell lung cancer: a pragmatic approach in clinical practice. *Ther Adv Med Oncol*. 2018;10:1758835918768238.

-
- ⁴¹ Ayers M, Lunceford J, Nebozhyn M, et al. IFN-gamma-related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade. *J Clin Invest*. 2017;127(8):2930e2940.
- ⁴² Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. 2016;375(9):819e829
- ⁴³ Tumeah PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature*. 2014;515:568-571.
- ⁴⁴ Hamid O, Schmidt H, Nissan A, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med*. 2011;9:204.
- ⁴⁵ Tai H, Yang Q, Wu Z, Sun S, Cao R, Xi Y, et al. PD-L1 expression predicts a distinct prognosis in Krukenberg tumor with corresponding origins. *J Immunol Res*. 2018;2018:9485285.
- ⁴⁶ Philip M, Fairchild L, Sun L, et al. Chromatin states define tumour-specific T cell dysfunction and reprogramming. *Nature*. 2017;545(7655):452e456.
- ⁴⁷ Nagarsheth N, Peng D, Kryczek I, et al. PRC2 epigenetically silences Th1-type chemokines to suppress effector T-cell trafficking in colon cancer. *Cancer Res*. 2016;76(2):275e282.
- ⁴⁸ Peng D, Kryczek I, Nagarsheth N, et al. Epigenetic silencing of TH1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy. *Nature*. 2015;527(7577):249e253
- ⁴⁹ Cabel L, Riva F, Servois V, et al. Circulating tumor DNA changes for early monitoring of anti-PD1 immunotherapy: a proof-of-concept study. *Ann Oncol*. 2017;28(8):1996e2001.
- ⁵⁰ Briere D, Sudhakar N, Woods DM, et al. The class I/IV HDAC inhibitor mocetinostat increases tumor antigen presentation, decreases immune suppressive cell types and augments checkpoint inhibitor therapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67(3):381e392.
- ⁵¹ Kawamoto S, Tran TH, Maruya M, et al. The inhibitory receptor PD-1 regulates IgA selection and bacterial composition in the gut. *Science*. 2012;336(6080):485e489.
- ⁵² Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018;359(6371):91e97
- ⁵³ Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 2015;350:1084-1089.
- ⁵⁴ Shen H, Yang ES, Conry M, Fiveash J, Contreras C, Bonner JA, Shi LZ. Predictive biomarkers for immune checkpoint blockade and opportunities for combination therapies. *Genes Dis*. 2019 Jul 3;6(3):232-246. doi: 10.1016/j.gendis.2019.06.006. PMID: 32042863; PMCID: PMC6997608.
- ⁵⁵ Taube JM, et al. Differential expression of immune-regulatory genes associated with PD-L1 display in melanoma: implications for PD-1 pathway blockade. *Clin Cancer Res*. 2015; 21:3969–3976.
- ⁵⁶ Lipson EJ, et al. PD-L1 expression in the Merkel cell carcinoma microenvironment: association with inflammation, Merkel cell polyomavirus and overall survival. *Cancer Immunol Res*. 2013; 1:54–63.
- ⁵⁷ Jacquelot N, Roberti MP, Enot DP, et al. Predictors of responses to immune checkpoint blockade in advanced melanoma. *Nat Commun*. 2017;8(1):592.
- ⁵⁸ Wang GZ, Zhang L, Zhao XC, Gao SH, Qu LW, Yu H, et al. The arylhydrocarbon receptor mediates tobacco-induced PD-L1 expression and is associated with response to immunotherapy. *Nat Commun*. 2019;10:1125.
- ⁵⁹ Valentinuzzi D, Simonicic U, Ursic K, Vrankar M, Turk M, Jeraj R. Predicting tumour response to anti-PD-1 immunotherapy with computational modelling. *Phys Med Biol*. 2019;64:025017.

-
- ⁶⁰ Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive nonsmall-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1823e1833.
- ⁶¹ Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, Sosman JA, McDermott DF, Powderly JD, and Gettinger SN, et al (2014). Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515(7528), 563–567.
- ⁶² Ren, Daixi et al. “Predictive biomarkers and mechanisms underlying resistance to PD1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy.” *Molecular cancer* vol. 19,1 19. 30 Jan. 2020, doi:10.1186/s12943-020-1144-6
- ⁶³ L’immunoediting enfin prouvé chez l’homme - La génétique au secours de l’immunothérapie Jean David Fumet and François Ghiringhelli *Med Sci (Paris)*, 35 8-9 (2019) 629-631 DOI: <https://doi.org/10.1051/medsci/2019125>
- ⁶⁴ L’immunoediting enfin prouvé chez l’homme - La génétique au secours de l’immunothérapie Jean David Fumet and François Ghiringhelli *Med Sci (Paris)*, 35 8-9 (2019) 629-631 DOI: <https://doi.org/10.1051/medsci/2019125>
- ⁶⁵ Shayan, Gulidanna κ.ά. ‘Adaptive resistance to anti-PD1 therapy by Tim-3 upregulation is mediated by the PI3K-Akt pathway in head and neck cancer’. *Oncoimmunology* 6.1 (2017): e1261779.
- ⁶⁶ Bertrand F, Montfort A, Marcheteau E, Imbert C, Gilhodes J, Filleron T, et al. TNFalpha blockade overcomes resistance to anti-PD-1 in experimental melanoma. *Nat Commun*. 2017;8:2256.
- ⁶⁷ Koyama, Shohei κ.ά. ‘Adaptive Resistance to Therapeutic PD-1 Blockade Is Associated with Upregulation of Alternative Immune Checkpoints’. *Nature communications* 7.1 (2016): 10501.
- ⁶⁸ Xie S, Huang J, Qiao Q, Zang W, Hong S, Tan H, et al. Expression of the inhibitory B7 family molecule VISTA in human colorectal carcinoma tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67:1685–94.
- ⁶⁹ Voron, Thibault κ.ά. ‘Control of the Immune Response by Pro-Angiogenic Factors’. *Frontiers in oncology* 4 (2014): 70.
- ⁷⁰ Peng, Weiyi κ.ά. ‘Abstract 4363: Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy’. *Cancer research* 76.14_Supplement (2016): 4363–4363.
- ⁷¹ George, Suzanne κ.ά. ‘Loss of PTEN Is Associated with Resistance to Anti-PD-1 Checkpoint Blockade Therapy in Metastatic Uterine Leiomyosarcoma’. *Immunity* 46.2 (2017): 197–204.
- ⁷² Shitara, Kohei, κ.ά. Hiroyoshi Nishikawa. ‘Regulatory T Cells: A Potential Target in Cancer Immunotherapy’. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1417.1 (2018): 104–115.
- ⁷³ Simpson, T. R. κ.ά. ‘Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of antiCTLA-4 therapy against melanoma’. *J Exp Med* 210 (2013): 1695–1710.
- ⁷⁴ Chesney, Jason A., Robert A. Mitchell, και Kavitha Yaddanapudi. ‘Myeloid-derived Suppressor Cells—a New Therapeutic Target to Overcome Resistance to Cancer Immunotherapy’. *Journal of leukocyte biology* 102.3 (2017): 727–740.
- ⁷⁵ Rodriguez, P. C., D. G. Quiceno, και A. C. Ochoa. ‘L-arginine availability regulates Tlymphocyte cell-cycle progression’. *Blood* 109.4 (2007): 1568–1573. Print.
- ⁷⁶ Parker, K. H., και D. W. Beury. ‘Myeloid-derived suppressor cells. Critical Cells Driving Immune Suppression in the Tumor Microenvironment’. *Adv Cancer Res* 128 (2015): 95–139.
- ⁷⁷ Zhu, H. κ.ά. ‘CXCR2(+) MDSCs promote breast cancer progression by inducing EMT and activated T cell exhaustion’. *Oncotarget* 8 (2017): 114554–114567.
- ⁷⁸ Jiang, Huanhuan κ.ά. ‘Elevated Chronic Inflammatory Factors and Myeloid-Derived Suppressor Cells Indicate Poor Prognosis in Advanced Melanoma Patients’. *International journal of cancer. Journal international du cancer* 136.10 (2015): 2352–2360.

-
- ⁷⁹ Gebhardt C, Sevko A, Jiang H, Lichtenberger R, Reith M, Tarnanidis K, et al. Myeloid Cells and Related Chronic Inflammatory Factors as Novel Predictive Markers in Melanoma Treatment with Ipilimumab. *Clin Cancer Res.* 2015;21:5453–9.
- ⁸⁰ Akbay, Esra A. κ.ά. 'Interleukin-17A Promotes Lung Tumor Progression through Neutrophil Attraction to Tumor Sites and Mediating Resistance to PD-1 Blockade'. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer* 12.8 (2017): 1268–1279.
- ⁸¹ Peng W, Chen JQ, Liu C, Malu S, Creasy C, Tetzlaff MT, et al. Loss of PTEN promotes resistance to T cell-mediated immunotherapy. *Cancer Discov.* 2016;6:202–16.
- ⁸² Fish EN and Plataniias LC (2014). Interferon receptor signaling in malignancy: a network of cellular pathways defining biological outcomes. *Molecular Cancer Research* 12(12), 1691–1703.
- ⁸³ Dewan M, Ahmed S, Iwasaki Y, Ohba K, Toi M, and Yamamoto N (2006). Stromal cell-derived factor-1 and CXCR4 receptor interaction in tumor growth and metastasis of breast cancer. *Biomed Pharmacother* 60(6), 273–276
- ⁸⁴ Feig C, Jones JO, Kraman M, Wells RJ, Deonarine A, Chan DS, Connell CM, Roberts EW, Zhao Q, and Caballero OL, et al (2013). Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci* 110(50), 20212–20217.
- ⁸⁵ Liu D, Jenkins RW, Sullivan RJ. Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade. *Am J Clin Dermatol.* 2019;20(1):41-54. doi:10.1007/s40257-018-0389-y
- ⁸⁶ Sade-Feldman, M., Jiao, Y.J., Chen, J.H. et al. Resistance to checkpoint blockade therapy through inactivation of antigen presentation. *Nat Commun* 8, 1136 (2017). <https://doi-org.ressources-electroniques.univ-lille.fr/10.1038/s41467-017-01062-w>
- ⁸⁷ Sade-Feldman, Moshe κ.ά. 'Resistance to Checkpoint Blockade Therapy through Inactivation of Antigen Presentation'. *Nature communications* 8.1 (2017): n. pag.
- ⁸⁸ Restifo, N. P. κ.ά. 'Loss of functional Beta2-microglobulin in metastatic melanomas from five patients receiving immunotherapy'. *Journal of the National Cancer Institute* 88.2 (1996): 100–108.
- ⁸⁹ Gettinger S, Choi J, Hastings K, Truini A, Datar I, Sowell R, et al. Impaired HLA Class I Antigen Processing and Presentation as a Mechanism of Acquired Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer. *Cancer Discov.* 2017;CD-17-0593.
- ⁹⁰ Chen, Limo κ.ά. 'CD38-Mediated Immunosuppression as a Mechanism of Tumor Cell Escape from PD-1/PD-L1 Blockade'. *Cancer discovery* 8.9 (2018): 1156–1175.
- ⁹¹ Beavis, Paul A. κ.ά. 'Adenosine Receptor 2A Blockade Increases the Efficacy of Anti-PD-1 through Enhanced Antitumor T-Cell Responses'. *Cancer immunology research* 3.5 (2015): 506–517.
- ⁹² Wang, Hong-Min κ.ά. 'Interleukin-35 Suppresses the Antitumor Activity of T Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer'. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology* 47.6 (2018): 2407–2419.
- ⁹³ Rôle de la protéine immuno-régulatrice PD-L1 sur le métabolisme des cellules tumorales, Julie Berthe
- ⁹⁴ Mondal, Arpita κ.ά. 'IDO1 Is an Integral Mediator of Inflammatory Neovascularization'. *EBioMedicine* 14 (2016): 74–82.
- ⁹⁵ Ladomersky, Erik κ.ά. 'IDO1 Inhibition Synergizes with Radiation and PD-1 Blockade to Durably Increase Survival against Advanced Glioblastoma'. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 24.11 (2018): 2559–2573.
- ⁹⁶ Toulmonde, Maud κ.ά. 'Use of PD-1 Targeting, Macrophage Infiltration, and IDO Pathway Activation in Sarcomas: A Phase 2 Clinical Trial'. *JAMA oncology* 4.1 (2018): 93–97.
- ⁹⁷ Taube JM, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med.*

2012; 4:127ra37. This report provides the first evidence for, and articulation of, the adaptive immune resistance hypothesis.

⁹⁸ Lyford-Pike S, et al. Evidence for a role of the PD-1:PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2013; 73:1733–1741.

⁹⁹ Shin, Daniel Sanghoon κ.ά. 'Primary Resistance to PD-1 Blockade Mediated by JAK1/2 Mutations'. *Cancer discovery* 7.2 (2017): 188–201.

¹⁰⁰ Alsaab, Hashem O. κ.ά. 'PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome'. *Frontiers in pharmacology* 8 (2017): 561.

¹⁰¹ Konen, Jessica M. κ.ά. 'Ntrk1 Promotes Resistance to PD-1 Checkpoint Blockade in Mesenchymal Kras/P53 Mutant Lung Cancer'. *Cancers* 11.4 (2019): 462.

¹⁰² Toyokawa G, Takada K, Tagawa T, Hamamoto R, Yamada Y, Shimokawa M, et al. A positive correlation between the EZH2 and PD-L1 expression in resected lung adenocarcinomas. *Ann Thorac Surg.* 2019;107:393–400.

¹⁰³ Bertrand F, Montfort A, Marcheteau E, Imbert C, Gilhodes J, Filleron T, et al. TNFalpha blockade overcomes resistance to anti-PD-1 in experimental melanoma. *Nat Commun.* 2017;8:2256.

¹⁰⁴ Swart, Maarten et al. "Combination Approaches with Immune-Checkpoint Blockade in Cancer Therapy." *Frontiers in oncology* vol. 6 233. 1 Nov. 2016, doi:10.3389/fonc.2016.00233

¹⁰⁵ Wang W, Wu L, Zhang J, Wu H, Han E, Guo Q. Chemoimmunotherapy by combining oxaliplatin with immune checkpoint blockades reduced tumor burden in colorectal cancer animal model. *Biochem Biophys Res Commun.* (2017) 487:1–7. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.12.180

¹⁰⁶ Kok M, Horlings HM, Van de Vijver K. Adaptive phase II randomized noncomparative trial of nivolumab after induction treatment in triple negative breast cancer: TONIC-trial OncologyPRO. *Oncol Pro.* (2017) 8(Suppl. 5): v605–49. doi: 10.1093/annonc/mdx440
Étude concernée : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02499367>

¹⁰⁷ Extrait du site web : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32150489/>

¹⁰⁸ Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non–small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* (2018) 378:2078–92. doi: 10.1056/NEJMoa1801005

¹⁰⁹ Rodel F, Frey B, Gaipf U, Keilholz L, Fournier C, Manda K, et al. Modulation of inflammatory immune reactions by low-dose ionizing radiation: molecular mechanisms and clinical application. *Curr Med Chem.* 2012;19:1741–50.

¹¹⁰ Kordbacheh T, Honeychurch J, Blackhall F, Faivre-Finn C, Illidge T. Radiotherapy and anti-PD-1/PD-L1 combinations in lung cancer: building better translational research platforms. *Ann Oncol.* 2018;29:301–10.

¹¹¹ Sharabi, Andrew B. κ.ά. 'Stereotactic Radiation Therapy Combined with Immunotherapy: Augmenting the Role of Radiation in Local and Systemic Treatment'. *Oncology (Williston Park, N.Y.)* 29.5 (2015): 331–340.

¹¹² Levitan D. Combined immunotherapy, thoracic RT carries moderate toxicity in lung cancer. *Cancer Netw.* (2017). Available online at: [http:// www.cancernetwork.com/radiation-oncology/combined-immunotherapythoracic- rt-carries-moderate-toxicity-lung-cancer](http://www.cancernetwork.com/radiation-oncology/combined-immunotherapythoracic-rt-carries-moderate-toxicity-lung-cancer)

¹¹³ Slovin, S. F. κ.ά. 'Ipilimumab alone or in combination with radiotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer: results from an open-label, multicenter phase I/II study'. *Ann Oncol* 24.7 (2013): 1813–1821.

¹¹⁴ Sapkota, Bishu, Charles E. Hill, και Brian P. Pollack. 'Vemurafenib Enhances MHC Induction in BRAFV600E Homozygous Melanoma Cells'. *Oncoimmunology* 2.1 (2013): e22890.

-
- ¹¹⁵ Ribas, Antoni, F. Stephen Hodi, κ.ά. 'Hepatotoxicity with Combination of Vemurafenib and Ipilimumab'. *The New England journal of medicine* 368.14 (2013): 1365–1366.
- ¹¹⁶ Hu-Lieskovan, S. κ.ά. 'Combining targeted therapy with immunotherapy in BRAF-mutant melanoma: promise and challenges'. *J Clin Oncol* 32.21 (2014): 2248–2254.
- ¹¹⁷ Ribas A, Butler M, Lutzky J, Lawrence D, Robert C, Miller W, et al. Phase I study combining anti-PD-L1 (MEDI4736) with BRAF (dabrafenib) and/ or MEK (trametinib) inhibitors in advanced melanoma. *J Clin Oncol* (2015) 33:suppl; abstr 3003.
- ¹¹⁸ Rosenberg, S. A. κ.ά. 'Tumor progression can occur despite the induction of very high levels of self/tumor antigen-specific CD8+ T cells in patients with melanoma'. *J Immunol* 175.9 (2005): n. pag.
- ¹¹⁹ Hodi, F. Stephen κ.ά. 'Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma'. *The New England journal of medicine* 363.8 (2010): 711–723.
- ¹²⁰ Gibney, Geoffrey T. κ.ά. 'Safety, Correlative Markers, and Clinical Results of Adjuvant Nivolumab in Combination with Vaccine in Resected High-Risk Metastatic Melanoma'. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 21.4 (2015): 712–720.
- ¹²¹ Ali, Omar A. κ.ά. 'Vaccines Combined with Immune Checkpoint Antibodies Promote Cytotoxic T-Cell Activity and Tumor Eradication'. *Cancer immunology research* 4.2 (2016): 95–100. Web.
- ¹²² Ribas, Antoni, Begoña Comin-Anduix, κ.ά. 'Dendritic Cell Vaccination Combined with CTLA4 Blockade in Patients with Metastatic Melanoma'. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 15.19 (2009): 6267–6276.
- ¹²³ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02529072>
- ¹²⁴ Quezada SA, Peggs KS, Curran MA, Allison JP. CTLA4 blockade and GM-CSF combination immunotherapy alters the intratumor balance of effector and regulatory T cells. *J Clin Invest* (2006) 116(7):1935–45. doi:10.1172/JCI27745
- ¹²⁵ van Elsas A, Hurwitz AA, Allison JP. Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-producing vaccines induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied. *J Exp Med* (1999) 190(3):355–66. doi:10.1084/jem.190.3.355
- ¹²⁶ Li B, VanRoey M, Wang C, Chen TT, Korman A, Jooss K. Anti-programmed death-1 synergizes with granulocyte macrophage colony-stimulating factor – secreting tumor cell immunotherapy providing therapeutic benefit to mice with established tumors. *Clin Cancer Res* (2009) 15(5):1623–34. doi:10.1158/1078-0432.CCR-08-1825
- ¹²⁷ van den Eertwegh AJM, Versluis J, van den Berg HP, Santegoets SJAM, van Moorselaar RJA, van der Sluis TM, et al. Combined immunotherapy with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transduced allogeneic prostate cancer cells and ipilimumab in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol* (2012) 13(5):509–17. doi:10.1016/S1470-2045(12)70007-4
- ¹²⁸ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01740297>
- ¹²⁹ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02263508>
- ¹³⁰ Long GV, Dummer R, Ribas A, Puzanov I, Walde A. Efficacy analysis of MASTERKEY-265 phase 1b study of talimogene laherparepvec (T-VEC) and pembrolizumab (pembro) for unresectable stage IIIB-IV melanoma. *J Clin Oncol* (2016) 34:suppl; abstr 9568.
- ¹³¹ Bajor DL, Mick R, Riese MJ, Richman LP, Xu X, Torigian DA, et al. Abstract CT137: combination of agonistic CD40 monoclonal antibody CP-870,893 and anti-CTLA-4 antibody tremelimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer Res* (2015) 75(15 Suppl):CT137. doi:10.1158/1538-7445.AM2015-CT137

-
- ¹³² Bajor DL, Mick R, Riese MJ, Richman LP, Xu X, Torigian DA, et al. Abstract CT137: Combination of agonistic CD40 monoclonal antibody CP-870,893 and anti-CTLA-4 antibody tremelimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer Res.* (2015) 75:CT137. doi: 10.1158/1538-7445.AM2015-CT137
- ¹³³ Zippelius A, Schreiner J, Herzig P, Müller P. Induced PD-L1 expression mediates acquired resistance to agonistic anti-CD40 treatment. *Cancer Immunol Res* (2015) 3(3):236–44. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0226
- ¹³⁴ Liu X, Pu Y, Cron K, Deng L, Kline J, Frazier WA, et al. CD47 blockade triggers T cell-mediated destruction of immunogenic tumors. *Nat Med* (2015) 21(10):1209–15. doi:10.1038/nm.3931
- ¹³⁵ Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2010) 107(9):4275–80. doi:10.1073/pnas.0915174107
- ¹³⁶ Lussier DM, Johnson JL, Hingorani P, Blattman JN. Combination immunotherapy with α -CTLA-4 and α -PD-L1 antibody blockade prevents immune escape and leads to complete control of metastatic osteosarcoma. *J Immunother Cancer* (2015) 3(1):21. doi:10.1186/s40425-015-0067-z
- ¹³⁷ Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* (2015) 373(1):23–34. doi:10.1056/NEJMoa1504030
- ¹³⁸ Woo S-R, Turnis ME, Goldberg MV, Bankoti J, Selby M, Nirschl CJ, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res* (2012) 72(4):917–27. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-1620
- ¹³⁹ Liu J, Yuan Y, Chen W, Putra J, Suriawinata AA, Schenk AD, et al. Immune-checkpoint proteins VISTA and PD-1 nonredundantly regulate murine T-cell responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2015) 112(21):6682–7. doi:10.1073/pnas.1420370112
- ¹⁴⁰ Extrait du site web : <https://www.prnewswire.com/news-releases/pierre-fabre-initiates-a-first-in-human-clinical-trial-for-an-innovative-monoconal-antibody-w0180-targeting-the-vista-checkpoint-in-patients-with-solid-tumors-301167998.html>
- ¹⁴¹ Anderson AC, Joller N, Kuchroo VK. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation. *Immunity* (2016) 44:989–1004. doi: 10.1016/j.immuni.2016.05.001
- ¹⁴² Jung H. Abstract A90: combination therapy of chemokine receptor inhibition plus PDL-1 blockade potentiates anti-tumor effects in a murine model of breast cancer. *Mol Cancer Ther* (2015) 14(12 Suppl 2):A90–90. doi:10.1158/1535-7163.TARG-15-A90
- ¹⁴³ Highfill SL, Cui Y, Giles AJ, Smith JP, Zhang H, Morse E, et al. Disruption of CXCR2-mediated MDSC tumor trafficking enhances anti-PD1 efficacy. *Sci Transl Med* (2014) 6(237):237ra67. doi:10.1126/scitranslmed.3007974
- ¹⁴⁴ Highfill SL, Cui Y, Giles AJ, Smith JP, Zhang H, Morse E, et al. Disruption of CXCR2-mediated MDSC tumor trafficking enhances anti-PD1 efficacy. *Sci Transl Med.* 2014;6:237ra267.
- ¹⁴⁵ Chang D-K, Sui J, Geng S, Muvaffak A, Bai M, Fuhlbrigge RC, et al. Humanization of an anti-CCR4 antibody that kills cutaneous T-cell lymphoma cells and abrogates suppression by T-regulatory cells. *Mol Cancer Ther* (2012) 11(11):2451–61. doi:10.1158/1535-7163.MCT-12-0278
- ¹⁴⁶ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02705105>
- ¹⁴⁷ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02301130>
- ¹⁴⁸ Hodi FS, Lawrence D, Lezcano C, Wu X, Zhou J, Sasada T, et al. Bevacizumab plus ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer Immunol Res* (2014) 2(7):632–42. doi:10.1158/2326-6066.CIR-14-0053
- ¹⁴⁹ Voron T, Colussi O, Marcheteau E, Pernot S, Nizard M, Pointet A-L, et al. VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8+ T cells in tumors. *J Exp Med* (2015) 212(2):139–49. doi:10.1084/jem.20140559

-
- ¹⁵⁰ Amin A, Plimack E, Infante J. Nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558, ONO- 4538) in combination with sunitinib or pazopanib in patients (pts) with metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol* (2014) 32(5s):suppl; abstr 5010.
- ¹⁵¹ Wang L-X, Mei Z-Y, Zhou J-H, Yao Y-S, Li Y-H, Xu Y-H, et al. Low dose decitabine treatment induces CD80 expression in cancer cells and stimulates tumor specific cytotoxic T lymphocyte responses. *PLoS One* (2013) 8(5):e62924. doi:10.1371/journal.pone.0062924
- ¹⁵² Covre A, Coral S, Nicolay H, Parisi G, Fazio C, Colizzi F, et al. Antitumor activity of epigenetic immunomodulation combined with CTLA-4 blockade in syngeneic mouse models. *Oncoimmunology* (2015) 4(8):e1019978. doi:10.1080/2162402X.2015.1019978
- ¹⁵³ Briere D, Sudhakar N, Woods DM, et al. The class I/IV HDAC inhibitor mocetinostat increases tumor antigen presentation, decreases immune suppressive cell types and augments checkpoint inhibitor therapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2018;67(3):381e392.
- ¹⁵⁴ Zingg D, Arenas-Ramirez N, Sahin D, et al. The histone methyltransferase Ezh2 controls mechanisms of adaptive resistance to tumor immunotherapy. *Cell Rep*. 2017;20(4): 854e867.
- ¹⁵⁵ McKee S. Novartis' Kymriah First Cell Therapy toWin US Green Light. (2017) Available online at: http://www.pharmatimes.com/news/novartis_kymriah_first_cell_therapy_to_win_us_green_light_1203820 (Accessed September 9, 2017).
- ¹⁵⁶ John LB, Devaud C, Duong CPM, Yong CS, Beavis PA, Haynes NM, et al. Anti-PD-1 antibody therapy potentially enhances the eradication of established tumors by gene-modified t cells. *Clin Cancer Res* (2013) 19(20):5636–46. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0458
- ¹⁵⁷ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02027935>
- ¹⁵⁸ Iannone R, Miele L, Maiolino P, Pinto A, Morello S. Adenosine limits the therapeutic effectiveness of anti-CTLA4 mAb in a mouse melanoma model. *Am J Cancer Res* (2014) 4(2):172–81.
- ¹⁵⁹ Extrait du site web : https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.3004
- ¹⁶⁰ Allard B, Pommey S, Smyth MJ, Stagg J. Targeting CD73 enhances the antitumor activity of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 mAbs. *Clin Cancer Res* (2013) 19(20):5626–35. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0545
- ¹⁶¹ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02503774>
- ¹⁶² Hanks B, Holtzhausen A, Evans K, Heid M, Blobe GC. Combinatorial TGF- β signaling blockade and anti-CTLA-4 antibody immunotherapy in a murine BRAFV600E-PTEN-/-transgenic model of melanoma. *J Clin Oncol* (2014) 32(5s):suppl; abstr 3011.
- ¹⁶³ Extrait du site web : https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.4124
- ¹⁶⁴ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02423343>
- ¹⁶⁵ Balachandran VP, Cavnar MJ, Zeng S, Bamboat ZM, Ocuin LM, Obaid H, et al. Imatinib potentiates antitumor T cell responses in gastrointestinal stromal tumor through the inhibition of Ido. *Nat Med*. (2011) 17:1094–100. doi: 10.1038/nm.2438
- ¹⁶⁶ Gangadhar TC, Hamid O, Smith DC, Bauer TM, Wasser JS, Luke JJ, et al. Preliminary results from a Phase I/II study of epacadostat (incb024360) in combination with pembrolizumab in patients with selected advanced cancers. *J Immunother Cancer* (2015) 3(Suppl 2):O7. doi:10.1186/2051-1426-3-S2-O7
- ¹⁶⁷ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02178722>
- ¹⁶⁸ Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med*. (2015) 372:2521–32. doi: 10.1056/NEJMoa1503093
- ¹⁶⁹ Extrait du site web : <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02073123>

¹⁷⁰ Duan, Jingjing et al. "Checkpoint blockade-based immunotherapy in the context of tumor microenvironment: Opportunities and challenges." *Cancer medicine* vol. 7,9 (2018): 4517-4529. doi:10.1002/cam4.1722

¹⁷¹Extrait du site web : <https://www.businesswire.com/news/home/20220221005179/en/U.S.-FDA-Approves-FoundationOne%C2%AECDx-as-a-Companion-Diagnostic-for-KEYTRUDA%C2%AE-pembrolizumab-to-Identify-Patients-with-Microsatellite-Instability-High-MSI-H-Solid-Tumors>

¹⁷²Extrait du site web : <https://www.medicaldevice-network.com/news/illumina-kartos-companion-diagnostic/>

¹⁷³Extrait du site web : <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/cobas-kras-mutation-test.html>

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2021/2022

Nom : VAN HOLLEBEKE
Prénom : Erik

**Inhibiteurs de points de contrôle en immuno-oncologie :
biomarqueurs prédictifs de réponse, mécanismes de résistance et
associations thérapeutiques**

Mots-clés :

Immunité et cancer, Immunothérapie, Inhibiteurs de points de contrôle immunitaire, anti-CTLA-4 anti-PD-1/PD-L1, efficacité et biomarqueurs prédictifs de réponse, microenvironnement tumoral, mécanismes de résistance, associations thérapeutiques, personnalisation de l'immunothérapie

Résumé :

Le blocage de CTLA-4 ou de PD-1/PD-L1 a permis d'obtenir des réponses durables sans précédent dans le traitement de certains cancers, avec des profils de toxicité généralement favorables. Cependant, seule une proportion relativement faible de patients bénéficie d'une telle efficacité. La réponse aux inhibiteurs de points de contrôle repose sur une restauration adéquate de l'immunité anti-tumorale, dont les différentes étapes constituent le cycle cancer-immunité. A la lumière de ce cycle, nous avons tenté de prédire la réponse aux inhibiteurs de checkpoint en identifiant des biomarqueurs prédictifs fiables puis en mettant en évidence les mécanismes à l'origine de la résistance primaire ou de la rechute après traitement. Ceci nous a permis de comprendre les différentes approches combinées au blocage des checkpoints immunitaires qui permettent de lever un second verrou d'inactivation et d'amplifier encore les réponses immunitaires antitumorales. L'expression de PD-L1, l'infiltration de cellules immunitaires dans la tumeur, l'instabilité des microsatellites et la déficience du système de réparation des mésappariements de l'ADN sont de bons biomarqueurs prédictifs de l'efficacité des inhibiteurs de points de contrôle. La régulation constitutive et adaptative de PD-1, les anomalies de la bêta-2-microglobuline ou, plus globalement, la présence d'un environnement tumoral immunosuppressif intégrant les différents mécanismes qui sous-tendent les troubles de l'activation des lymphocytes T peuvent expliquer la résistance au traitement. Les approches combinées les plus prometteuses associent les inhibiteurs de points de contrôle à la radiothérapie, à la vaccination, aux anti-VEGF ou à de nouveaux points de contrôle immunitaires. Cependant, ces approches combinées doivent être soigneusement configurées en fonction des observations précédentes et du phénotype tumoral pour être efficaces et tenter de fournir aux patients des soins optimaux.

Président : Professeur Christophe CARNOY, Faculté de Pharmacie de Lille

Assesseur(s) : Professeur Benjamin BERTIN, Faculté de Pharmacie de Lille,
Professeur Philippe CHAVATTE , Faculté de Pharmacie de Lille

Membre(s) extérieur(s) : Docteur Florent TEXIER, Servier UK & Ireland