

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

جامعة جيجل

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

**Mémoire De Fin D'étude Pour l'Obtention du Diplôme des Etudes  
Supérieures en Biologie**

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة و الحياة  
المسكنية  
رقم الجرد : 2744

**Option : Biochimie**

**Intitulé**

***Immunité anti tumorale et thérapies  
cellulaires du cancer***

**Membres de jury :**

**Examinatrice :** M<sup>elle</sup> BENSAM Moufida

**Encadreur :** M<sup>me</sup> ROUIBAH Hassiba

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> Bouhekrit Feriel

M<sup>elle</sup> Boutafaha Nadjeh

**Année universitaire : 2012-2013**



## Remerciements


*En premier lieu, nous tenons à remercier notre DIEU, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre promoteur consultant M<sup>me</sup> RVOIBAH HASSIBA pour nous avoir diligenté tout au long de ce travail, pour sa compréhension, sa patience, sa compétence, et ces remarques qui nous ont été précieuses.*

*Nous tenons à remercier également, le jury pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger et d'évaluer notre travail.*

*Nous présentons nos chaleureux remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour l'aboutissement de ce travail.*

NADJAH & FERIEL.





*Je dédie ce travail*

*A papa, les mots me manquent terriblement pour exprimer mes sentiments aujourd'hui. Tu nous as appris le sens de la dignité, de l'honneur, du respect et de la probité. Tu as toujours été un exemple pour toute la famille, pour ton soutien moral, affectif et matériel. Je veux te dire merci, pour toute la confiance que tu as placée en moi, merci pour ce que tu as fait et pour tout ce que tu feras encore pour moi. Je suis fière d'être ta fille et j'espère que tes conseils me porteront encore plus loin.*

*Pour la source de ma vie qu'est toujours une oreille attentive pour moi, et toujours cru en moi et qui m'a soutenu jusqu'au bout, maman chérie, tu incarnes l'amour, la tolérance, la bonté. Merci pour pionnière de mon éducation, supporté toutes mes crises de doutes au cours de mes révisions, d'avoir vécu mes examens avec moi ; Et surtout Pardon pour les soucis, les angoisses et la fatigue que je t'aie causés, tu es et seras notre fierté de tout le temps.*

*Que DIEU vous bénisse et vous garde aussi longtemps auprès de nous pour que vous puissiez cueillir les fruits mûrs. Et j'espère que vous avez fière de moi.*

*A tous mes chères sœurs : MOUNA, ASMA, KHAOULA, MAROUA, et la petite sœur ROUMAÏSSA qu'elles sont accompagnées tout ma vie, vous êtes toujours les meilleurs et la force qui nous lie est le secret de notre réussite.*

*A mon chère frère ISHAK merci pour tout ce que tu fais pour moi. Sans oublier mon adorable petit frère MOHAMED ABD ELKHALEK. Que le tout puissant ALLAH resserre nos liens de fraternité. AMEN*

*A DJALALE et ABD ELCETTAR, qu'ils sont des frères plus proche à des oncles pour moi. Que DIEU resserre notre relation.*

*A grand père, tante, Que DIEU vous bénisse et garde encore longtemps auprès de nous.*

*A mes oncles et tantes, retrouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance et de tout mon respect. En particule ma cuisine SOUMIA à qu'elle je dis merci.*

*A mes chères copines NAHLA, NASSIRA, HALA, HOUDA, SOUHAILA, FAHIMA, MADIHA.*

*A mon chère binôme NADHJAH et sa famille.*

*Feriel*

# DÉDICACE

*Je dédie ce travail,*

*A mes très chers parents « **Belkacem et cherifa** » qui m'a tant donnée sans rien à prendre, ceux qui ont vraiment octroyée la lumière pour un aveugle et la richesse pour un pauvre, je remercie infiniment pour leurs aide et leurs soutien moral.*

*A mes adorables et très chères sœurs : Houda et Sabah.  
et mes chers frères : Toufik, Khaled, Mouhamed, Khair eddine et aimed.*

*Et aussi mon adorable chère : Sief addine.*

*A toute ma grande famille sans oublier la famille Daghibar et surtout : Ikram, hadjar, Maroi, Rayene et Widade qui ma tant donnée et soutenue.*

*A tous mes chères amies*


*A mon binôme et ma chère amie Feriele.  
ainsi que sa famille.*

*A tous mes collègues de la promotion 4eme année  
Biochimie 2012/2013.*

*A ceux qui ont cru en moi,*

*A ceux qui croient en moi*

*et A ceux qui croiront toujours en moi*



*Nadje*



# Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures et tableaux.....	III
Introduction.....	1
<b>Chapitre I : Généralité sur le cancer.....</b>	
<b>I-1- Définition.....</b>	<b>3</b>
<b>I-2- Les facteurs cancérogènes.....</b>	<b>3</b>
<b>I-2-1- Les facteurs exogènes.....</b>	<b>3</b>
I-2-1-1- Les agents physiques.....	3
I-2-1-2- Les agents chimiques.....	3
I-2-1-3- Les agents infectieux.....	4
<b>I-2-2- Les facteurs endogènes.....</b>	<b>4</b>
I-2-2-1- Les agents héréditaires.....	4
I-2-2-2- Le système immunitaire.....	4
I-2-2-3- Les agents nutritionnels.....	5
<b>I-3- Les étapes de la cancérogénèse.....</b>	<b>6</b>
I-3-1- L'initiation ou transformation cellulaire tumorale.....	6
I-3-2- La promotion ou amplification de la perte de l'homéostasie.....	6
I-3-3- La néo-angiogenèse.....	6
I-3-4- L'invasivité tumorale locale.....	7
I-3-5- L'établissement de métastases.....	7
<b>I-4- Le traitement et la résistance.....</b>	<b>7</b>
<b>Chapitre II Immunité antitumorale.....</b>	
<b>II-1- Les antigènes tumoraux.....</b>	<b>9</b>
<b>II-1-1- Les méthodes utilisées pour l'identification des antigènes tumoraux.....</b>	<b>9</b>
<b>II-1-2- Classification des antigènes tumoraux.....</b>	<b>9</b>
II-1-2-1- Les antigènes issus de la mutation.....	9
II-1-2-2- Les antigènes de la différenciation.....	10
II-1-2-3- Les antigènes spécifiques des tumeurs.....	10
II-1-2-4- Les antigènes d'origine virale.....	11
II-1-2-5- Les antigènes surexprimés.....	11
<b>II-2- Immunité antitumorale.....</b>	<b>11</b>
<b>II-2-1- La réponse immunitaire innée.....</b>	<b>12</b>
II-2-1-1- Les cellules NK.....	12
II-2-1-2- Les lymphocytes NKT.....	14
II-2-1-3- Les macrophages.....	15
II-2-1-4- Les lymphocytes T $\gamma$ -delta.....	15
II-2-1-5- Les neutrophiles.....	16
<b>II-2-2- Immunité adaptative.....</b>	<b>16</b>
II-2-2-1- Les lymphocytes T.....	17
II-2-2-2- Les lymphocytes B.....	20
II-2-2-3- Les lymphocytes T régulatrices.....	20
<b>II-3- Echappement tumoral à la réponse immunitaire.....</b>	<b>20</b>
II-3-1- La perd d'expression du CMH.....	20
II-3-2- L'altération de la présentation antigénique.....	21
II-3-3- Les molécules de costimulation.....	21
II-3-4- La résistance à l'apoptose.....	22
II-3-5- La production de molécules immunosuppressives.....	22
II-3-5-1- Le facteur de croissance transformant Béta TGF- $\beta$ .....	22
II-3-5-2- L'interleukine-10.....	23
<b>Chapitre III L'immunothérapie et la thérapie cellulaire du cancer.....</b>	
<b>III-1- L'immunothérapie.....</b>	<b>25</b>
<b>III-1-1- L'immunothérapie passive.....</b>	<b>25</b>

<b>III-1-1-1- L'immunothérapie passive non spécifique.....</b>	25
<b>III-1-1-2- L'immunothérapie passive spécifique.....</b>	27
<b>III-1-2- L'immunothérapie active.....</b>	29
<b>III-1-2-1- L'immunothérapie active non spécifique.....</b>	29
<b>III-1-2-2- L'immunothérapie active spécifique.....</b>	30
<b>III-2- La thérapie cellulaire.....</b>	31
<b>III-2-1- La thérapie cellulaire par injection des cellules immunitaire.....</b>	31
<b>III-2-1-1- L'injection des lymphocytes.....</b>	31
<b>III-2-1-2- L'injection des cellules dendritiques.....</b>	33
<b>III-2-1-3- L'injection des cellules NK.....</b>	34
<b>III-2-1-4- L'injection des macrophages.....</b>	35
<b>III-2-2- La thérapie cellulaire par injection des cellules tumorales.....</b>	35
<b>III-2-3- La thérapie cellulaire par l'injection des cellules souches</b>	
<b>mésenchymateuses.....</b>	35
<b>III-3- La thérapie génique.....</b>	36
<b>III-3-1- Transfert d'un gène suicide.....</b>	36
<b>III-3-2- Modification des cellules tumorales.....</b>	37
<b>III-3-3- Modification des effecteurs immunitaires.....</b>	38
<b>III-3-3-1- Les lymphocytes.....</b>	38
<b>III-3-3-2- Les cellules dendritiques.....</b>	39
<b>III-3-4- Les oncogènes et gènes suppresseurs.....</b>	39
<b>Conclusion.....</b>	41
<b>Références bibliographiques.....</b>	

## Listes des abréviations

<b>Ac</b>	<b>Anticorps.</b>
<b>AcBs</b>	<b>Anticorps BiSpécifiques.</b>
<b>Acm</b>	<b>Anticorps monoclonaux.</b>
<b>ADCC</b>	<b>Antibody Dependant Cellular Cytotoxicity</b>
<b>ADN</b>	<b>Acide DésoxyriboNucléique.</b>
<b>ADNc</b>	<b>ADN complémentaire.</b>
<b>ARN</b>	<b>Acide RiboNucléique.</b>
<b>BAGE</b>	<b>Bladder AntiGEN.</b>
<b>BCG</b>	<b>Bacille de Calmette Guérin.</b>
<b>CASP</b>	<b>Caspase 8.</b>
<b>CD</b>	<b>Cellules Dendritiques.</b>
<b>CDK</b>	<b>Cyclin-Dependant protein Kinase.</b>
<b>CDR</b>	<b>Complementary Determining Regions.</b>
<b>CMH</b>	<b>Complexe Majeur d'Histocompatibilité.</b>
<b>CPAs</b>	<b>Cellules Présentatrice d'Antigène.</b>
<b>CSC</b>	<b>Cellules Souches Cancéreuses.</b>
<b>CTLs</b>	<b>Lymphocyte T Cytotoxique spécifique.</b>
<b>DcR</b>	<b>Decoy Receptor</b>
<b>E1A</b>	<b>Adenovirus early Region 1</b>
<b>EBV</b>	<b>Estein-Barr Virus.</b>
<b>FasL</b>	<b>Fas Ligand.</b>
<b>Fc</b>	<b>Fragment Constant.</b>
<b>FR</b>	<b>FRameworks.</b>
<b>GAGE</b>	<b>Gastric AntiGEN.</b>
<b>GM-CSF</b>	<b>Granulocytes and Macrophages Colony Stimulating Factor</b>
<b>G-CSF</b>	<b>Granulocyte Colony Stimulating Factor.</b>
<b><math>\alpha</math>-GalCer</b>	<b><math>\alpha</math>-GlactosylCeramide.</b>
<b>HAMA</b>	<b>Human Anti-Mouse Antibody.</b>
<b>HER</b>	<b>Human Epidermic Receptor.</b>
<b>HLA</b>	<b>Human Leucocyte Antigèn.</b>
<b>HGF/SF</b>	<b>Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor.</b>
<b>HSP</b>	<b>Heat Shock Protein.</b>
<b>HSVtk</b>	<b>Herpes Simplex Virus thymidine-kinase.</b>
<b>ICAM</b>	<b>Inter-Cellular Adhesion Molecule.</b>
<b>IFN</b>	<b>INterFéron.</b>
<b>IL</b>	<b>InterLeukine.</b>
<b>IDO</b>	<b>Indioleamine 2,3-DésOxygénase.</b>
<b>IT</b>	<b>ImmunoToxines.</b>
<b>KIR</b>	<b>Killer Cell Inhibitory Receptor.</b>
<b>KLH</b>	<b>Keyhole Limpet Hemocyanin.</b>
<b>LAK</b>	<b>Lymphokine-Activated killers.</b>
<b>LT<math>\gamma\delta</math></b>	<b>Lymphocytes T gamma-delta.</b>

<b>LB</b>	<b>Lymphocytes B.</b>
<b>LPS</b>	<b>LypoPolySaccharide.</b>
<b>MAGE</b>	<b>Melanoma AntiGEN. MSC : Cellules Souches Mésenchymateuses.</b>
<b>TAM</b>	<b>Tumor Associated Macrophages.</b>
<b>NK</b>	<b>Natural Killer.</b>
<b>NKG-</b>	<b>Natural killer du Group-.</b>
<b>NKT</b>	<b>Natural Killer T.</b>
<b>NK-κB</b>	<b>Nuclear Factor κB.</b>
<b>RAGE</b>	<b>Renal AntiGEN.</b>
<b>Tc</b>	<b>T cytotoxique.</b>
<b>TCR</b>	<b>T Cell Récepteur</b>
<b>Th</b>	<b>T help.</b>
<b>TIL</b>	<b>Tumor Infiltrating Lymphocytes.</b>
<b>TK</b>	<b>Thymidine-Kinase.</b>
<b>TNF</b>	<b>Tumor Nérosis Factor.</b>
<b>TNF-R</b>	<b>Tumor Necrosis Factor Receptor.</b>
<b>TRAIL</b>	<b>TNF-Related Apoptosis Inducing ligand.</b>



## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	réponse immune anti-tumorale.....	12
<b>Figure 2 :</b>	Balance des signaux activateurs et inhibiteurs au cours des réponses immunes médiées par les cellules NK.....	13
<b>Figure 3 :</b>	Activités cytotoxiques des cellules NK.....	13
<b>Figure 4 :</b>	Modèle d'activation des NKT par l'IL-12 (a) ou l' $\alpha$ -GalCer (b).....	14
<b>Figure 5 :</b>	La réponse immunitaire innée antitumorale.....	16
<b>Figure 6 :</b>	Mécanismes de lyse de la cellule tumorale.....	17
<b>Figure 7 :</b>	Rôle des cellules T CD4+ dans la modulation des réponses immunes anti-tumorales.....	18
<b>Figure 8 :</b>	La perforine et les granzymes sont libérés au niveau de la synapse Immunologique.....	19
<b>Figure 9 :</b>	Induction de l'apoptose par FasL.....	19
<b>Figure 10 :</b>	Inhibition de la réponse anti-tumorale par TGF- $\beta$ .....	23
<b>Figure 11 :</b>	Mécanismes d'échappement tumoral à la lyse spécifique.....	24
<b>Figure 12 :</b>	Ingénierie des anticorps.....	28
<b>Figure 13 :</b>	Thérapie anti-tumorale à base d'anticorps.....	29
<b>Figure 14 :</b>	Principes de la vaccination peptidique.....	30
<b>Figure 15 :</b>	Préparation du produit de thérapie cellulaire.....	32
<b>Figure 16 :</b>	Schéma général d'une approche thérapeutique par transfert adoptif avec lymphocytes modifiés.....	32
<b>Figure 17 :</b>	Différentes approches de vaccins ciblant ou utilisant les DC.....	34
<b>Figure 18 :</b>	Modification génétique des cellules tumorales.....	38
<b>Figure 19 :</b>	Utilisation de cellules dendritiques génétiquement modifiées.....	39

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b>	Immunothérapie des tumeurs par l'administration de cytokines.....	26
--------------------	---	----

# *Introduction*

## Introduction

Dans l'organisme, il n'est pas rare que les cellules subissent de nombreux stress occasionnant des lésions qui empêchent leur bon fonctionnement et nécessitent un mécanisme de réparation. Dans le cas où ces cellules ne parviennent pas à réparer les lésions, elles déclenchent leur mécanisme de mort programmée, l'apoptose, afin d'éliminer les cellules lésées et de maintenir l'intégrité de l'organisme. Il arrive parfois que certaines lésions entraînent une inactivation du processus d'apoptose conduisant à une prolifération incontrôlée des cellules, aboutissant à la formation d'une masse tumorale plus ou moins diffuse altérant le bon fonctionnement de l'organe. Cette pathologie est désignée sous le nom de cancer.

Dans le processus d'immunosurveillance, l'immunité innée et l'immunité adaptative, sont toutes les deux impliquées et collaborent pour éliminer les cellules tumorales. L'immunité innée n'est pas forcément efficace pour l'éradication ou le contrôle des cellules tumorales. Cette réponse est assurée par différentes cellules effectrices : les cellules Natural Killer, les cellules NKT, les lymphocytes T gamma-delta, les macrophages, et les polynucléaires neutrophiles. Ainsi le système immunitaire après une activation non spécifique a été capable de mettre en place une réponse immune anti-tumorale efficace, caractérisée par l'expansion et la différenciation de lymphocytes T cytolytiques (CD8+) et auxiliaires (CD4+) qui reconnaissent spécifiquement des antigènes présents à la surface des cellules tumorales, constitue une deuxième ligne de défense antitumorale.

Malgré la surveillance exercée par le système immunitaire, il est évident que les tumeurs échappent fréquemment à leur élimination. Il se produit au cours de l'évolution tumorale un changement portant à la fois sur des caractéristiques immunologiques de la tumeur et sur celles du système immunitaire chargé de la surveiller et de la contrôler.

Plus récemment devant l'échec relatif des traitements classiques, de nouvelles stratégies thérapeutiques ont été envisagées telles que l'immunothérapie ayant pour objectif d'induire une réponse immunitaire capable de provoquer le rejet des cellules tumorales. L'immunothérapie antitumorale peut être réalisée selon deux modalités : l'immunothérapie passive fait appel à des effecteurs isolés et activés *in vitro* avant leur réinjection et l'immunothérapie active. La thérapie génique est une stratégie thérapeutique basée sur le transfert de gènes. Elle a pour but d'introduire chez un patient la copie normale des gènes déficitaires responsables de sa maladie, ou bien de modifier l'expression des gènes délétères impliqués dans une pathologie, et la thérapie cellulaire ; cette stratégie thérapeutique consiste à prélever, à mettre en culture et à manipuler au laboratoire les cellules tumorales ou les cellules immunitaires du malade avant de les lui réinjecter.

Les objectifs de notre mémoire sont résumés dans les points suivants:

- Comprendre comment le système immunitaire intervient dans la lutte contre le cancer.
- Comprendre les mécanismes d'échappement de la cellule cancéreuse du système immunitaire.

- Savoir les différentes stratégies d'immunothérapie anti tumorale et la thérapie cellulaire



*Chapitre I*  
*Généralités sur*  
*le Cancer*

## Chapitre I : Généralités sur le cancer

### I-1- Définition

Le cancer est une pathologie des organismes complexes présentant des tissus renouvelables. Cette maladie complexe peut affecter tous les tissus. Elle se développe suite à l'accumulation de plusieurs altérations de l'ADN (**Bishop, 1991**).

Plus récemment, il a été mis en évidence dans des tumeurs l'existence de cellules possédant des propriétés de cellules souches (ayant des capacités d'auto-renouvellement et de différenciation) qui sont dénommées : « cellules souches cancéreuses » ou « cancer stem cells » (CSC). Elles seraient à l'origine de la grande variété des cellules différenciées présentes au sein de la tumeur (**Lapidot, 1994**).

Le cancer est la conséquence de la multiplication anarchique des cellules anormales, les moyens de contrôle du cycle cellulaire par l'organisme étant altérés. Dans l'organisme, il n'est pas rare que les cellules subissent de nombreux stress, occasionnant des lésions qui empêchent leur bon fonctionnement et nécessitent un mécanisme de réparation. Dans le cas où ces cellules ne parviennent pas à réparer les lésions, elles déclenchent leur mécanisme de mort programmée, l'apoptose (**Loebinger et Janes, 2010**).

### I-2- Les facteurs cancérogènes

#### I-2-1- les facteurs exogènes

##### I-2-1-1- Les agents physiques

Les radiations sont à l'origine de nombreux cancers qu'elles soient de nature électromagnétiques ou particulaire, elles apportent une énergie suffisante pour altérer l'ADN (**Hœrni, 2001**). Les lésions des radiations sont la conséquence d'une chaîne des réactions biochimiques, entraînées par l'absorption des photons dans différents compartiments subcellulaires. Immédiatement après l'irradiation, des espèces radicalaire de oxygène sont produites dans la cellule, d'autres réactions interviennent, produit l'hydrogène et de l'eau oxygénée. La recapture de l'eau oxygénée génère des radicaux libres qui interagissent très rapidement avec les molécules voisines, notamment l'ADN, pour donner des lésions irréversible. L'ADN est donc agressé soit directement, soit indirectement (**Viala, 2007**).

##### I-2-1-2- Les agent chimiques

Les produits chimiques cancérogènes initient des changements génétiques dans une cellule. Un produit génotoxique (généralement après l'activation) réagit avec une macromolécule support de l'information génétique l'ADN, pour former un adduit à l'ADN ou induit d'autres altérations chimiques de L'ADN. La cellule atteinte meurt ou revient à son état initial après la réparation de l'ADN. Si aucun de ces événements ne se produit, le processus d'*initiation* devient irréversible. Certains cancérogènes chimiques peuvent activer des oncogènes, transformant la cellule normale

en cellule cancéreuse. La conversion et la progression sont caractérisées par changements morphologiques et /ou biochimiques dans l'activité ou la structure du génome (Lu, 1992).

### **I-2-1-3- Les agents infectieux**

L'agent infectieux intègre dans son génome un proto-oncogène d'origine cellulaire et l'insère ensuite dans le génome d'une autre cellule. Lorsque ce proto-oncogène se trouve placé sous la dépendance d'un promoteur puissant, ou lorsqu'il a subi une mutation définie, il s'exprimera en tant qu'oncogène et déterminera l'apparition d'un cancer (Hoerni, 2001).

### **I-2-2- les facteurs endogènes**

#### **I-2-2-1- Les agents héréditaires**

Plusieurs mutations dans une cellule somatique sont nécessaires pour le démarrage et le développement d'un cancer. La mutagenèse apparaît donc comme une étape-clé de la cancérogénèse et son importance a été clairement mise en évidence par la vérification de la sélection progressive d'un phénotype mutateur au cours de l'évolution tumorale. A moins que les lésions de l'ADN chromosomique ne soient réparées, les réarrangements chromosomiques et les mutations s'accumulent, ce qui peut conduire dans certains cas à un début de cancer (Pasternak, 2003 ; Viala, 2005).

Parmi l'ensemble des gènes mutés, il est possible d'individualiser des oncogènes, des gènes suppresseurs de tumeurs. Les gènes ayant la capacité de provoquer un cancer sont appelés des pro-oncogènes et sont associés à la prolifération cellulaire ; ils codent pour des facteurs de croissance cellulaire, des protéines de transduction ou des récepteurs membranaires. Les pro-oncogènes deviennent des oncogènes quand ils subissent des mutations ponctuelles ou sont la cible de réarrangements chromosomiques, qui arrêtent l'expression, produisent en excès certaines protéines ou entraînent d'autres altérations qui amènent le développement d'un cancer (Pasternak 2003 ; Viala, 2005).

Des gènes, spécifiant des protéines qui limitent les cycles de prolifération cellulaires et de division cellulaire incontrôlés, sont des gènes suppresseurs de tumeurs. Ils sont associés à l'arrêt du cycle cellulaire, à l'apoptose et à la réparation de l'ADN, ils ont un rôle direct, ou indirect majeur dans le démarrage du précurseur tumoral. La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale peut être réalisée par des mutations touchant les gènes suppresseurs (Viala, 2005 ; Pasternak, 2003).

#### **I-2-2-2- Le système immunitaire**

La fonction du système immunitaire est de protéger l'organisme contre des organismes étrangers. Divers toxiques sont connus pour supprimer la fonction immunitaire. Cet effet conduit à un contrôle diminué des néoplasmes. Parmi les néoplasmes les plus souvent observées, on trouve les leucémies et lymphomes et les cancers cutanés. Il est parfois difficile de distinguer entre l'effet oncogénique direct d'une molécule et celui, indirect, où les tumeurs se développent

suite à l'affaiblissement du système immunitaire. Les médicaments immunosupresseurs ont souvent été incriminés dans l'apparition de néoplasmes (LU, 1992 ; Viala, 2005).

Dans tous les cas d'immunodéficience ou d'immunosuppression chez l'homme, seules des tumeurs de certains types, plus particulièrement celles qui sont associées à des virus, sont observées avec une plus grande fréquence que dans la population normale. Les sujets normaux qui sont infectés par le virus d'Estéin-Barr (EBV) hébergent le virus pendant toute leur vie et développent une vigoureuse réponse vis-à-vis de ce virus. Chez les individus immunodéficients, on observe une augmentation de la réplication virale et une libération de particules virales dans les sécrétions, ce qui montre que la réponse immunitaire limite la réplication dans les circonstances normales (Roitt *et al.*, 1994).

### I-2-2-3- Les agents nutritionnels

L'étude des mécanismes d'action d'un facteur sur le processus de cancérogenèse est abordée dans des cellules humaines, ou dans des cellules animales. Ces approches permettent d'étudier plus finement les différentes étapes de la transformation d'une cellule normale en une cellule tumorale, les facteurs de signalisation impliqués, notamment dans la régulation du cycle de vie de la cellule (Rafter *et al.*, 2004).

Ces facteurs ou leurs métabolites peuvent aussi altérer l'ADN *via* la production de radicaux libres, peuvent modifier les bases de l'ADN, voire provoquer la fragmentation de l'ADN. Plusieurs molécules d'origine alimentaire inhibent la prolifération cellulaire. Outre l'arrêt du cycle cellulaire, certains facteurs alimentaires induisent aussi le processus d'apoptose (Manson, 2003 ; Khan *et al.*, 2007).

Un mécanisme implique les acides gras à courte chaîne (l'acétate, le préopinate et le butyrate). Le butyrate peut intervenir à plusieurs niveaux :

- En induisant le mécanisme d'apoptose et en réduisant la prolifération cellulaire. En effet, le butyrate peut désactiver les protéines p21 (produites par les proto-oncogènes ras) qui interviennent dans le mécanisme de prolifération.
- En induisant la différenciation, par régulation de l'expression de certains gènes (Baron *et al.*, 1998).

L'alcool interviendrait de façon directe par un effet cytotoxique local de son métabolite, l'acétaldéhyde, sur les tissus et par l'induction d'enzymes capables d'activer des proto-oncogènes. Il aurait également un rôle indirect dans la mesure où la consommation d'alcool est associée à des déficiences en nutriments (Giovannucci, 2001).

L'augmentation du risque de cancer avec une forte consommation de viande rouge a été rapportée dans des études menées. Concernant les charcuteries, leur rôle éventuel pourrait être lié aux conservateurs utilisés tels que le nitrite. Le nitrite et les composés nitres peuvent être transformés en dialkylnitrosamines qui sont des composés carcinogènes (Norat et Riboli, 2000 ; Sugimura, 2000).



Les jonctions communicantes jouent un rôle dans le contrôle de la prolifération cellulaire, l'apoptose, la différenciation, la réponse adaptative des cellules différenciées et la sénescence. Certains composés des aliments peuvent inhiber les jonctions communicantes (**Trosko et Ruch, 1998 ; Chaumontet et al., 2008**).

### **I-3- Les étapes de la cancérogénèse**

On peut résumer le développement tumoral comme suit :

#### **I-3-1- L'initiation ou transformation cellulaire tumorale**

Le cancer est une maladie complexe qui peut affecter tous les tissus. Elle se développe suite à l'accumulation de plusieurs altérations de l'ADN sous l'effet de facteurs divers qui provoquent l'apparition et la progression de la tumeur (**Bishop, 1991 ; Santarius, 2010**).

Les mécanismes moléculaires mis en jeu lors des étapes de cancérogénèse font appel à l'ensemble des facteurs déjà décrits, de susceptibilité individuelle et d'interaction entre génome et environnement. Ils aboutissent à des gains ou pertes des fonctions cellulaires qui bouleversent l'homéostasie cellulaire. La transformation cellulaire comporte deux éléments majeurs, l'immortalisation et la perte d'homéostasie (**Tubiana, 2002**).

Il s'agit de la nécessité d'accumuler plusieurs altérations oncogéniques pour parvenir à un cancer. Une première altération permet à une cellule de se multiplier plus rapidement que ses voisines, ou de survivre plus longtemps et de conférer cette propriété à ses descendantes. Il résulte un clone cellulaire proliférant ; la population issue de la cellule où survient cette seconde altération va rapidement prendre le dessus de la précédente, et ainsi de suite (**Hærni, 2001**).

#### **I-3-2- La promotion ou amplification de la perte de l'homéostasie**

L'étape de promotion caractérisée par une amplification de la perte de l'homéostasie associe une instabilité génomique qui se traduit par une perte de facteurs de protection (gènes suppresseurs) et augmentation des facteurs favorisant la progression (oncogènes entre autre) pour chaque type tumoral et chaque individu, ces modifications sont plus ou moins rapides (**Tubiana, 2002**).

#### **I-3-3- La néo-angiogenèse**

La néoangiogenèse stromale péri-tumorale est un phénomène capital pour permettre la croissance tumorale au-delà d'un sphéroïde de 2 mm. Le développement de cette néo-angiogenèse se fait à partir des capillaires pré-existants par déstabilisation de ceux-ci sous stimulation par des facteurs de croissance angiogéniques. Ces facteurs sont sécrétés par les cellules tumorales mises en hypoxie du fait de leur croissance rapide autonome. Les protéases et les héparinases sécrétées par les cellules tumorales et stromales participent à la dégradation des glycoaminoglycanes constituant la membrane basale (dont la propriété est de stocker certains

facteurs de croissance). La dégradation des glycoaminoglycanes par des héparinase spécifiques, permet la libération et l'activation des facteurs de croissance angiogéniques (Tubiana, 2002).

### **I-3-4- L'invasivité tumorale locale**

Elle permet aux cellules cancéreuses d'envahir d'abord l'espace qu'elles ont à leur disposition, puis de franchir les différentes barrières qui cloisonnent normalement les tissus, comme les membranes basales (Hœrni, 2001).

L'environnement tumoral ou stroma interagit avec le processus tumoral non seulement par le développement de la néo-angiogenèse mais également par déclenchement inapproprié, par le stroma, des mécanismes physiologiques de réparation tissulaire. Cette réaction stromale est caractérisée par l'activation et la synthèse de multiples protéases. Cet ensemble d'activités enzymatiques protéasiques (tumorale et stromale) permet la dissolution des matrices extracellulaires et de la trame stromale, et la migration des cellules tumorales non seulement à travers le stroma mais également dans les néocapillaires et lymphatiques pré-tumoraux (Tubiana, 2002).

### **I-2-5- L'établissement de métastases**

Elle se fait en utilisant les vaisseaux lymphatiques et/ou par ensemencement d'une séreuse comme déjà signalé.

La propagation lymphatique, à partir des canaux lymphatiques sous-muqueux, aboutit dans le premier temps à envahir les ganglions de drainage situés en aval de la tumeur, qui jouent le rôle de filtre mécanique freinant la propagation des cellules cancéreuses. La propagation sanguine est généralement plus tardive mais plus rapide que la propagation lymphatique car il n'existe pas de relais ganglionnaire pour arrêter les cellules cancéreuses. Elle aboutit à des métastases à distance de la tumeur primaire (Hœrni, 2001).

Cependant, certaines cellules tumorales circulantes peuvent survivre à cet ensemble de stress (agression par les acteurs de la défense immunitaire), s'immobiliser dans des sites spécifiques et entreprendre la colonisation tissulaire après extravasation. L'arrêt des cellules cancéreuses circulantes fait appel à une reconnaissance spécifique entre cellules tumorales et épitopes de surface des cellules endothéliales, via des molécules d'adhésion (Tubiana, 2002).

### **I-4- Le traitement et la résistance**

Les tumeurs sont couramment traitées par une combinaison de thérapies dites « classiques » comprenant la chirurgie, la radiothérapie locale et la chimiothérapie. La chirurgie permet d'enlever la tumeur et les ganglions environnants. Toutefois, même dans le cas d'une tumeur bien localisée et délimitée, le seul traitement par chirurgie reste souvent insuffisant (Tjandra, 2007 ; Zitvogel *et al.*, 2008).

La chimiothérapie est utilisée pour prévenir ou traiter les cancers métastatiques. Cette thérapie consiste à administrer au malade un médicament cytotoxique ciblant les cellules ayant une activité mitotique importante, comme les cellules tumorales, mais malheureusement aussi les cellules normales intestinales et hématopoïétiques et celles des follicules pileux. La radiothérapie vient compléter l'action des deux moyens précédents pour détruire les cellules tumorales résiduelles au niveau du foyer chirurgical (Skipper et Thomson, 1995 ; Hu *et al.*, 2010).

Les résultats quoiqu'encourageants ne sont efficaces que transitoirement. Les monothérapies conduisent souvent à l'émergence de résistances par les tumeurs. Même si la chimiothérapie reste le traitement de référence dans la majorité des cas, ses effets secondaires sont le plus souvent très importants et les cellules tumorales peuvent acquérir des résistances. De nombreuses tumeurs exposées à de fortes concentrations de principe actif développent des phénomènes de résistance vis-à-vis des substances anticancéreuses utilisées, ce qui diminue leur efficacité. Ces phénomènes de résistance sont la principale cause d'échec de la chimiothérapie (Hayes et Pulford, 1995 ; Clynes, 2000 ; Kunzmann, 2009).

En 2000, D. Hanahan et R. Weiberge ont suggéré que les six principales caractéristiques des cellules cancéreuses étaient les suivants : autonomes de croissance, insensibilité aux inhibiteurs physiologiques de la croissance cellulaire, échappement à l'apoptose, capacité de se diviser de façon illimitée (immortalisation), forte capacité angiogénique, d'invasion et de formation de métastases. Récemment, vu l'importance du rôle de surveillance du système immunitaire dans le développement des cellules tumorales, l'échappement à l'immunosurveillance a été suggéré comme septième caractéristique fondamentale des cellules tumorales (El Hage, 2008).

Cependant, des micrométastases de cellules tumorales dormantes peuvent fréquemment mener à une rechute et un échec thérapeutique. C'est pourquoi, il importe de développer des stratégies visant à stimuler la réponse immune afin d'obtenir une rémission totale (Zitvogel *et al.*, 2008).

*Chapitre II*

*Immunité*

*antitumorale*



## Chapitre II- Immunité antitumorale

### II- Immunité antitumorale

#### II-1- Les antigènes tumoraux

##### II-1-1- Méthodes utilisées pour l'identification des antigènes tumoraux

Diverses stratégies ont été utilisées pour identifier les antigènes tumoraux :

Une première approche de génétique moléculaire a utilisé la transfection de banques d'ADN complémentaire (ADNc) de tumeurs dans des cellules qui exprimaient les molécules d'histocompatibilité adéquates. Les cellules transfectées sont alors testées pour leur capacité à stimuler des clones lymphocytaires T cytotoxiques spécifiques de la lignée tumorale dont est dérivé d'ADNc. On a pu ainsi identifier les gènes codant les antigènes tumoraux reconnus par ces clones lymphocytaires T. En un deuxième temps, grâce à l'utilisation de cellules transfectées uniquement avec des fragments des gènes identifiés, il a été possible de définir les régions codant les peptides antigéniques. Enfin, sur la base des séquences obtenues, des peptides synthétiques ont été produits et testés pour leur capacité à sensibiliser les cellules présentatrices à la lyse par les lymphocytes T cytotoxiques spécifiques. Cette dernière étape permet de confirmer que la séquence obtenue est bien celle reconnue par les cellules T d'intérêt.

Une deuxième méthode a concerné la purification biochimique des peptides naturels élués à partir des molécules d'histocompatibilité de class I exprimées par les cellules tumorales. Les différents peptides élués ont été testés comme précédemment, pour leur capacité à stimuler la capacité fonctionnelle de cellules T cytotoxiques spécifiques. Une fois identifiés, ces peptides sont séquencés, produits sous forme synthétique et testés pour leur capacité fonctionnelle. Cette démarche est particulièrement adaptée dans le cas des protéines ayant subi des modifications post-traductionnelles pour lesquelles la séquence du peptide ne peut pas être déduite directement à partir de la séquence de l'ADNc (Chatenoud *et al.*, 2008 ; Delves *et al.*, 2008).

Une autre stratégie, l'analyse sérologique de bibliothèques d'expression d'ADNc recombinant utilise un antisérum dilué de patients cancéreux pour dépister les anticorps qui réagissent contre les protéines exprimées par les ADNc des tissus cancéreux. Cette approche repose sur l'hypothèse que les anticorps antitumoraux sont révélateurs des cellules T auxiliaires spécifiques de ces antigènes (Delves *et al.*, 2008).

##### II-1-2- Classification des antigènes tumoraux

###### II-1-2 -1- Les antigènes issus de mutation

Une mutation entraîne la formation d'un nouveau complexe antigénique reconnaissable par les cellules T parce que le changement d'acide aminé permet soit à un peptide de la protéine de se lier à une molécule HLA soit à un peptide normalement associé à un HLA d'être reconnu comme étrangers (Chapel *et al.*, 2004).

Les antigènes de cette catégorie ont été identifiés au niveau de la séquence de protéines impliquées dans la régulation du cycle cellulaire (CDK4). Des oncogènes (*ras*) ou des gènes

suppresseurs (*p53*) mutés peuvent ainsi se révéler à la fois oncogéniques et antigéniques, les mutations de *ras* codent pour une protéine p21ras, connue pour son antigénicité. Il en va de même pour des mutations sur la  $\beta$ -caténine ou encore sur Cdk4 (Wolfel *et al.*, 1995 ; Catros-Quemener *et al.*, 2003).

Les gènes codant ces peptides sont des gènes de protéines ubiquitaires qui subissent des mutations somatiques au niveau des cellules tumorales. Concernant les cellules tumorales humaines, c'est dans cette catégorie que l'on trouve :

- La mutation qui touche le gène de la kinase cycline dépendante DCK4, qui favorise une prolifération cellulaire incontrôlée.
- la mutation du gène de la  $\beta$ -caténine qui stimule la prolifération cellulaire et/ou inhibe l'apoptose.
- la mutation de gène de la caspase 8 (CASP8), une protéase qui est indispensable à l'apoptose induit par la stimulation de récepteurs membranaires tels que Fas ou le récepteur du TNF (Chatenoud *et al.*, 2008).

#### II-1-2 -2- Les antigènes de différenciation

Il s'agit d'antigènes qui sont spécifiques des cellules normales d'un tissu donné et que l'on trouve sur les cellules tumorales correspondantes. Ces antigènes sont des produits de gènes de différenciation qui s'expriment de façon limitée dans les tissus sains correspondants, et sont surexprimés en cas de cancer. Il s'agit des produits des gènes RU2 (gène d'entretien) et alt-M-CSF (épissage alternatif d'une cytokine : M-CSF) dans les cellules rénales (Bouet et Catros, 2004 ; Chatenoud *et al.*, 2008).

Les antigènes oncofœtaux sont des antigènes de différenciation exprimés durant le développement fœtal mais normalement non exprimé, ou exprimé à taux très faibles durant la vie adulte (Roitt *et al.*, 2002).

#### II-1-2-3- Les antigènes spécifiques des tumeurs

Ils sont aussi appelés antigènes « publics » car leur expression est partagée par différents types histologiques de cancer. C'est le cas de la famille des gènes MAGE, BAGE, GAGE et RAGE. Ce sont les gènes MAGE exprimés dans le mélanome qui ont été les premiers découverts par le groupe de T. Boon de l'institut Ludwig à Bruxelles en 1992 (Bouet et Catros, 2004).

Les antigènes spécifiques des tumeurs sont spécifiques des cellules tumorales et n'apparaissent pas à la surface des cellules normales de l'organisme. Les seules cellules normales qui expriment les gènes MAGE sont des cellules du trophoblaste placentaire et des cellules germinales testiculaires (Chatenoud *et al.*, 2008 ; Kindt *et al.*, 2008).

### II-1-2 -4- Les antigènes d'origine virale

Certaines tumeurs peuvent être liées à une infection par des virus oncogènes. Après infection, les virus expriment des gènes qui codent des facteurs affectant la croissance et la division cellulaires. L'absence de contrôle de ces gènes peut conduire à une transformation maligne des cellules. Des peptides viraux associés à des molécules de surface du CMH, situées sur la cellule tumorale, se comportent comme de puissants antigènes reconnus par des cellules T cytotoxique spécifiques (CTL) (Letonturier, 2007).

Contrairement aux tumeurs induites chimiquement, les tumeurs induites par des virus expriment des antigènes de tumeurs partagés par toutes les tumeurs induites par le même virus (Kindt *et al.*, 2008).

### II-1-2-5- Les antigènes surexprimés

Ces antigènes sont ubiquitaires, mais surexprimés spécifiquement dans un nombre important de cellules tumorales d'origines variées. Contrairement aux gènes de la famille MAGE, les antigènes de cette catégorie sont exprimés dans les cellules normales, mais à des taux d'expression particulièrement faibles. Pour cette raison, les CTL spécifiques de ces antigènes reconnaissent spécifiquement les cellules tumorales mais pas les cellules saines (Lethe *et al.*, 1997). Le gène de la télomérase (TERT) est surexprimé dans 85% des cancers et semble quasi silencieux dans la plupart des tissus normaux. Ainsi par exemple, des CTL dirigés contre un peptide de la télomérase présenté par HLA-A2 lysent spécifiquement des cellules tumorales (Vonderheide et Hahn, 1999). C'est le cas par exemple de la protéine HER-2 /neu, produit d'un oncogènes retrouvée à faible densité dans les tissus normaux (Chatenoud *et al.*, 2008).

## II-2- Immunité antitumorale

Le développement d'une réponse immunitaire à toute agression antigénique se traduit par l'activation de deux systèmes de défense : une réponse *innée* ou *naturelle* qui constitue la première ligne de défense et une réponse *spécifique* ou *adaptative* impliquant des réponses humorales et à médiation cellulaire (figure 1) (El Hage *et al.*, 2008).



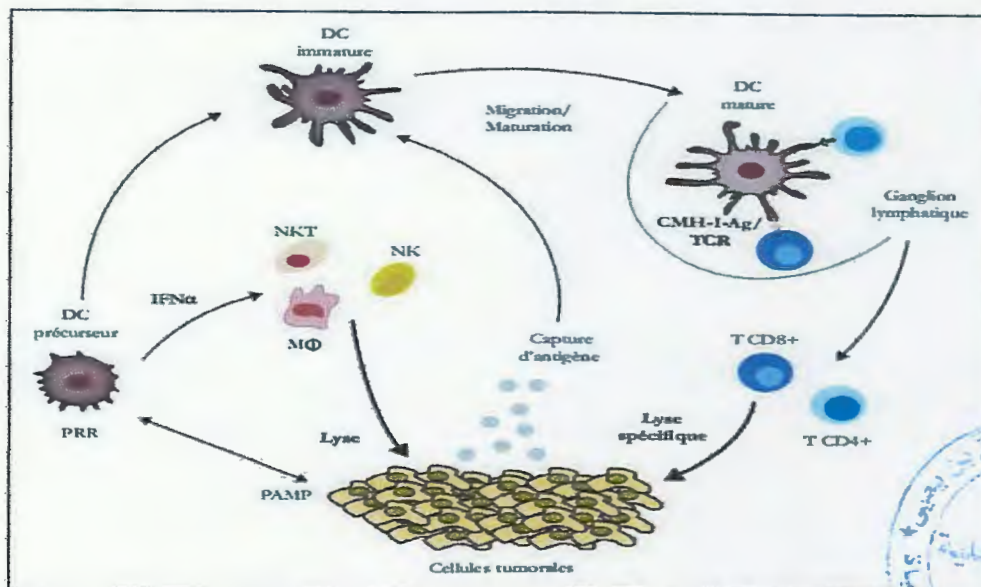


Figure 1: Réponse immunitaire anti-tumorale (El Hage *et al.*, 2008).

## II-2-1- La réponse immunitaire innée

Le système inné présent très tôt au cours de l'évolution des espèces, qui représente une première barrière de défense contre les agents pathogènes, et est immédiatement activé suite à la rencontre avec l'agent infectieux (Bouet et Catros, 2004).

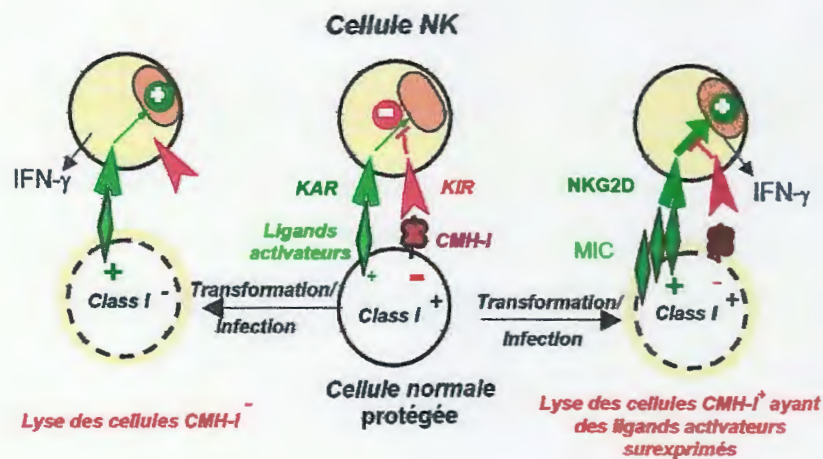
Cette réponse immunitaire anti-tumorale innée est assurée par différentes cellules effectrices : les cellules Natural Killer (NK), les cellules NKT, les lymphocytes T gamma-delta ( $\gamma\delta$ ), les monocytes/macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les polynucléaires éosinophiles (Ferlazzo *et al.*, 2004).

### II-2-1-1- Les cellules NK (natural killer)

Les cellules NK et NKT ont un rôle particulièrement important dans l'élimination de ces cellules tumorales ayant perdu l'expression CMH. Ils sont en majorité CD3-CD16<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>. Ils peuvent détruire leurs cibles par différents mécanismes : soit par contact indirect au moyen de leur récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines (CD16) entraînant une lyse par ADCC (*antibody dependant cellular cytotoxicity*) d'une cellule cible ayant fixé des anticorps (Whiteside et Herberman, 1995 ; Bouet et Catros, 2004).

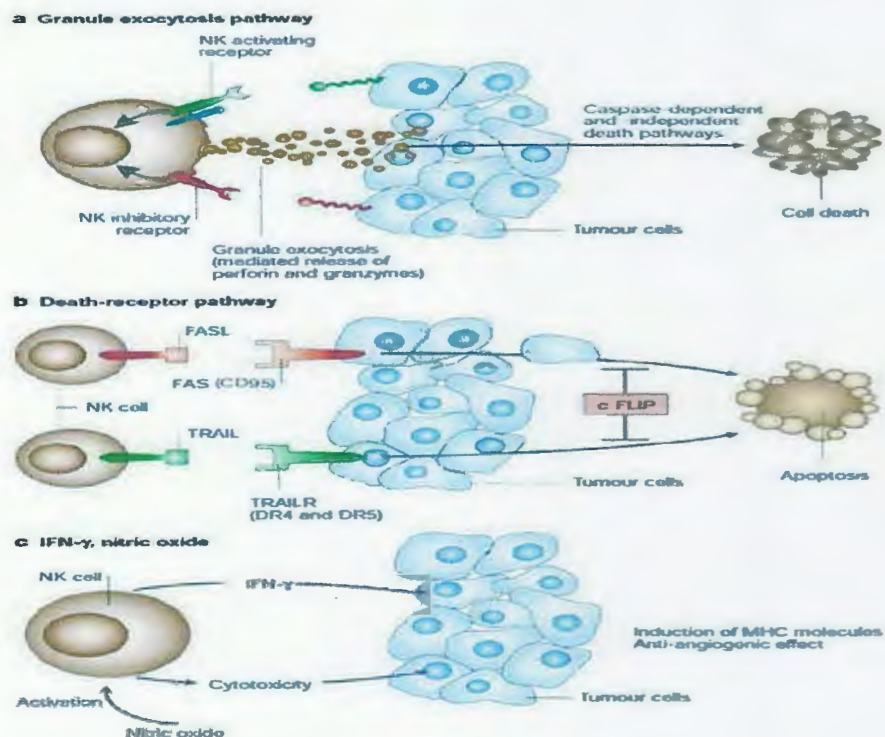
Soit par contact direct entre la cellule NK et la cellule cible par interaction membranaire de type récepteur-ligand. La reconnaissance de structures de surface sur la cible cellulaire implique divers récepteurs activateurs et inhibiteurs, mais il est important de souligner à nouveau que la reconnaissance de la class I donne un signal négatif inactivant les cellules NK. Inversement, cela implique que l'appauvrissement en CMH de class I, auquel les tumeurs recourent pour échapper aux cellules T cytotoxiques Tc, les rendrait plus sensibles à l'attaque par les NK (Figure2) (Bouet et Catros, 2004 ; Delves *et al.*, 2008).





**Figure 2 :** Balance des signaux activateurs et inhibiteurs au cours des réponses immunes médiées par les cellules NK (Bottino et Moretta, 2004).

En particulier, l'identification et la caractérisation des récepteurs de types inhibiteurs spécifiques des allèles du CMH de classe I (KIR, *killer cell inhibitory receptor*) ont permis de comprendre les mécanismes de reconnaissance spécifique et de lyse de cellules tumorales ayant perdu l'expression de certaines molécules de classe I. L'interaction entre ces récepteurs et la molécule de CMH classe I entraîne une inhibition de la lyse de la cible. En revanche, si la cellule exprime les molécules de classe I à un niveau insuffisant, il y a déclenchement de la lyse (Zitvogel et Faure, 1999 ; Bouet et Catros, 2004).



**Figure 3:** Activités cytotoxiques des cellules NK (Smyth, 2002).

La lyse induite par les cellules NK peut être médiée par la sécrétion d'interféron  $\gamma$  (INF $\gamma$ ), la libération de perforine et de granzyme B ou secondaire à la transmission d'un signal pro-apoptotique par les voies Fas\FasL ou TRAIL. De plus, cette cytotoxicité s'exerce sans reconnaissance spécifique d'antigènes sur la cellule cible (Borge *et al.*, 2003).

### II-2-1-2- Les lymphocytes NKT

Les cellules NKT jouent un rôle clé dans la réponse innée et dans l'induction de la réponse adaptative. La fonction anti-tumorale des lymphocytes NKT semble être liée à la production de cytokines comme interleukine-2 (IL-2) et l'INF- $\gamma$  (Rosenstein *et al.*, 1984).

Les cellules NKT, sont une catégorie de cellules T possédant des caractéristiques des NK (expression des NKG2D et CD244) et un TCR (*T-cell receptor*) de type  $\alpha\beta$ . Ces cellules sont dotées d'une action cytotoxique antitumorale comparable à celle des NK (Smyth et Godfrey, 2000).

Ces lymphocytes seraient, dans une première étape, spécifiquement activés par le ligand de leur TCR (des molécules CD1 associées au galactosylcéramide) et, dans une seconde étape, seraient alors capables de détruire les cellules tumorales. En effet, l'injection de  $\alpha$ -GalCer in vivo peut activer les NKT et prévenir les métastases tumorales (Kawano et Cui, 1998 ; Zitvogel et Faure, 1999).

Un modèle d'activation en trois étapes a même été suggéré pour expliquer comment la reconnaissance de cet antigène par les cellules NKT favorise l'activation des cellules NK (figure 3). Concernant l'implication des NKT dans l'effet anti-métastatique de l'IL-12, il a été montré qu'une faible quantité de cette cytokine stimulait une réponse dépendante uniquement des NKT alors que des doses plus importantes favorisaient une réponse de type NK comme dans le cas de l' $\alpha$ -GalCer (Takada et Hayakawa, 2000 ; Smyth et Godfrey, 2000).

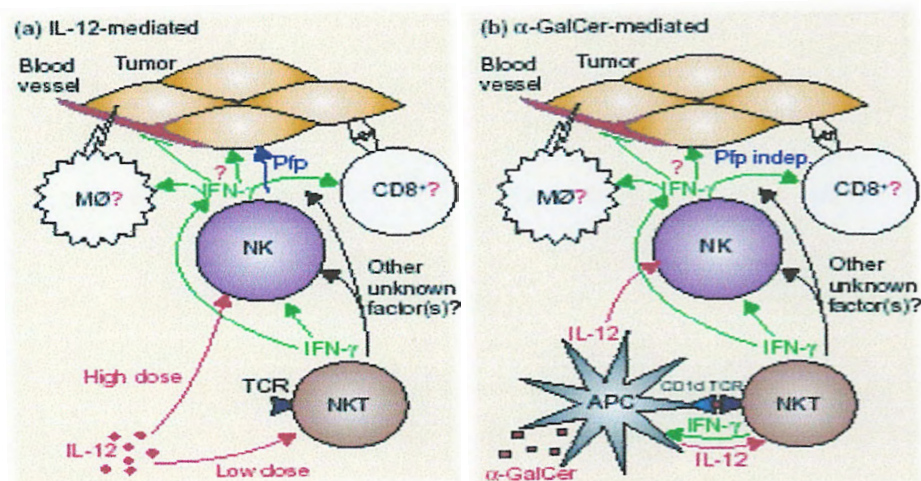


Figure 4: Modèle d'activation des NKT par l'IL-12 (a) ou l' $\alpha$ -GalCer (b) (Smyth et Godfrey, 2000).



### II-2-1-3- Les macrophages

Sont les principales cellules leucocytaires qui infiltrent une tumeur ; ils sont nommés macrophages associés à la tumeur ou MAT (ou TAM pour tumor associated macrophages). Leur activation dépend de leur état de différenciation, ainsi que de facteurs extérieurs : cytokines et stimuli inflammatoires ou anti-inflammatoires. Les macrophages présents *in situ* peuvent être activés par différentes cytokines dont l'IFN- $\gamma$ , l'IL-4, le TNF- $\alpha$  ou encore le GM-CSF (Granulocytes and Macrophages Colony Stimulating Factor) (Whiteside et Herberman, 1995 ; Diefenbach, 2000 ; López-Larrea, 2008).

Les macrophages ne sont pas restreints au CMH et expriment des récepteurs Fc qui leur permettent de se lier à un anticorps présent à la surface des cellules tumorales et de médier une ADCC. Les macrophages disposent de récepteurs NKG2D qui reconnaissent à la surface des cellules tumorales des ligands MIC A, MIC B ou ULBP (chez l'homme), H-60 ou RAE (chez la souris). Leur interaction active la cytotoxicité des macrophages qui se traduit par la sécrétion de cytokines cytotoxiques (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6...) (Diefenbach, 2000 ; Jakóbsiak *et al.*, 2003 ; kindt *et al.*, 2008 ; López-Larrea, 2008).

L'activité anti-tumorale des macrophages activés est probablement médiée par des enzymes lytiques et des intermédiaires réactifs dérivés de l'oxygène ou de l'azote. Et la sécrétion de protéases (lysozymes, urokinase, collagénase, élastase...). De plus les macrophages activés sécrètent une cytotoxine appelée facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) qui possède une puissante activité anti tumorale. Le TNF $\alpha$  produit par les macrophages activés est capable de détruire par l'apoptose de nombreuses lignées de cellules cancéreuses (Revillard, 2001 ; Jakóbsiak *et al.*, 2003 ; kindt *et al.*, 2008).

### II-2-1-4- Les lymphocytes T gamma-delta : LT $\gamma\delta$

Les lymphocytes T $\gamma\delta$ , malgré leur nombre minoritaire, sont impliqués dans l'immunité anti-tumorale. Le premier argument concernant cette fonction fut la réactivité de ces cellules vis-à-vis de cibles tumorales, *in vitro* (Rodríguez et Ochoa, 2008).

Ils sont capables de détruire spontanément et par contact direct les cellules tumorales via une reconnaissance de la cellule cible grâce à leur récepteur de cellules T ou TCR (*T-cell receptor*) ou par l'activation de leurs récepteurs de lyse cellulaire (NKG2D, CD160, KIR2DD5, CD94/NKG2C). Les T $\gamma\delta$  expriment aussi le récepteur FasL (*Fas ligand*) induisant l'apoptose des cellules tumorales exprimant Fas et produisent l'IFN- $\gamma$ , une cytokine essentielle dans l'immunosurveillance antitumorale (Spada *et al.*, 2000 ; Shankaran *et al.*, 2001).

Ils possèdent des granules lytiques préformés permettant une cytotoxicité immédiate. Les granules lytiques sont essentiellement composés du couple granzyme/perforine, du système Fas/FasL et de granulysines. Une fois la cellule activée et la synapse immunologique formée, les granules sont orientés vers celle-ci et la libération de leur contenu aboutit à la mort de la cellule cible (Raulet, 2003).

### II-2-1-5- Les neutrophiles

Ils représentent une autre population cellulaire recrutée précocement au cours du processus inflammatoire. Ils ont une fonction cytotoxique importante et sont considérés comme des effecteurs de l'immunité innée anti-tumorale (Antoine *et al.*, 1998).

La cellule tumorale produirait des facteurs de croissance comme du GM-CSF et du G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) qui attireraient les neutrophiles et les rendraient résistants à l'apoptose. Les neutrophiles quant à eux, sont capables de produire de HGF/SF (hepatocyte growth factor/scatter factor) qui induit une augmentation de la migration des cellules tumorales (Wislez *et al.*, 2003).

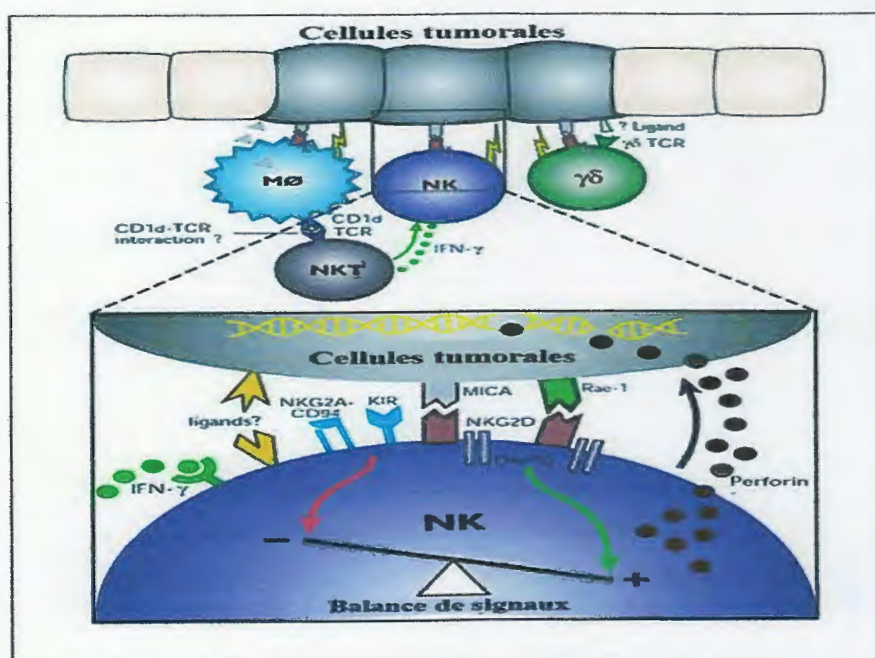


Figure 5 : La réponse immunitaire innée antitumorale (Smyth *et al.*, 2001).

### II-2-2- Immunité adaptative

L'immunité innée n'est pas forcément efficace pour l'éradication ou le contrôle des cellules tumorales. L'immunité adaptative, caractérisée par l'expansion et la différenciation de lymphocytes spécifiques de l'antigène, constitue une deuxième ligne de défense antitumorale (Janeway, 2001).



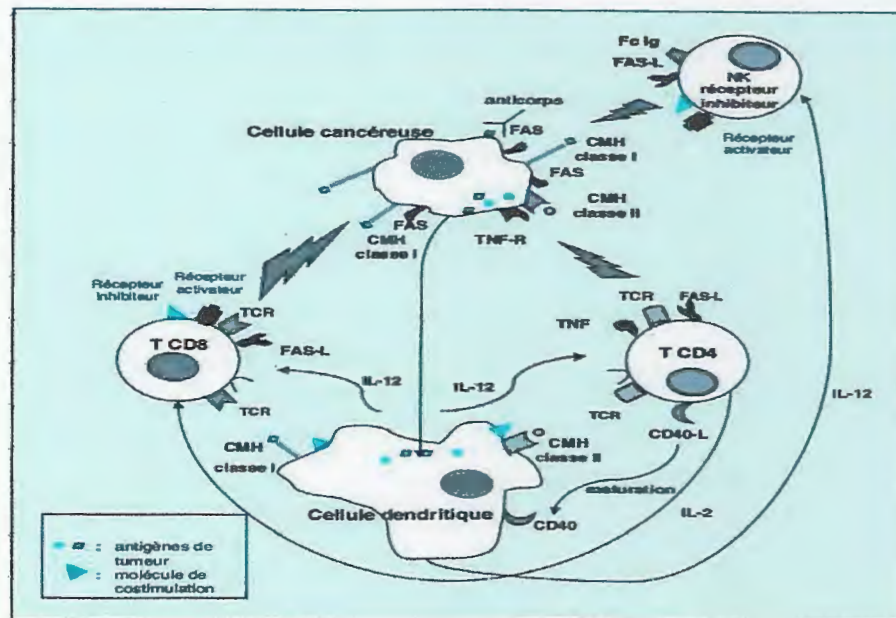


Figure 6 : Mécanismes de la lyse de la cellule tumorale (Bouet et Catros, 2004).

## II-2-2-1- Les lymphocytes T

### A- Les lymphocytes TCD4<sup>+</sup>

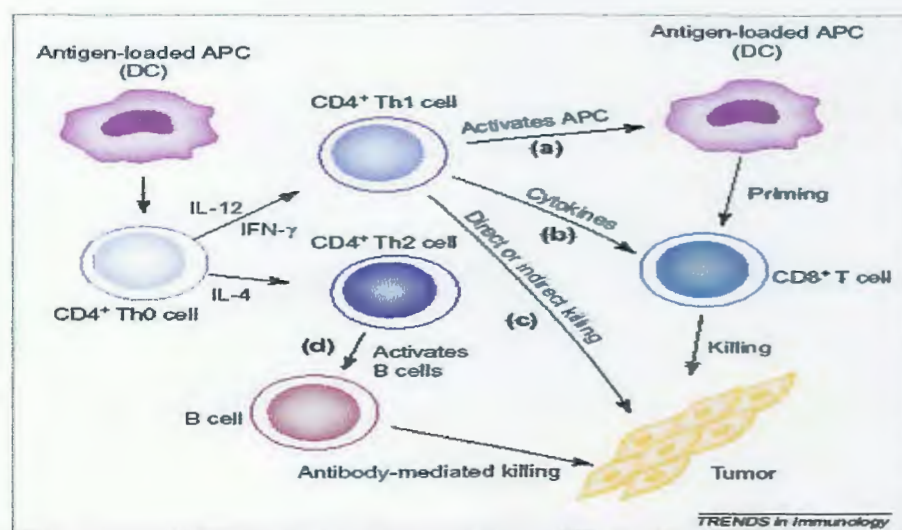
Depuis les années 90, on a découvert que l'interaction entre la molécule CD40 exprimée par les cellules présentatrices d'antigènes (CPAs) et leur ligand CD40L (CD154) exprimé par les T CD4<sup>+</sup> est impliquée dans l'immunité protectrice anti-tumorale. Les LT CD4<sup>+</sup> sont capables d'orienter la nature de la réponse immunitaire (Mosmann et Coffman, 1989 ; Mackey et Gunn, 1997 ; Mackey et Gunn, 1998).

Une réponse de type lymphocyte T help 1 (Th1) est caractérisée par la production d'IFN $\gamma$ , de TNF $\alpha$  et d'IL-2. C'est ce type de réponse qui est favorable à une réponse immunitaire antitumorale aboutissant à la lyse de la cellule tumorale. Une réponse de type Th2 s'accompagne d'une sécrétion d'IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13 et active la réponse humorale (Bouet et Catros, 2004).

Les cellules T CD4<sup>+</sup> peuvent induire un effet anti-tumoral avec des mécanismes variés. Les lymphocytes T auxiliaires lysent les cellules tumorales de façon indirecte soit par l'intermédiaire de cytokines, soit en stimulant d'autres cellules comme les macrophages ou les polynucléaires éosinophiles. Ensuite, l'IFN- $\gamma$  sécrété par les Th1 joue un rôle direct sur les tumeurs en favorisant la production de radicaux libres oxygénés (Williamson et Carswell, 1983 ; Franssen et Heyden, 1986 ; Wang, 2001 ; Bellet et Dangles-Marie, 2004).

Elles peuvent jouer un rôle crucial dans l'initiation et l'activation des T CD8<sup>+</sup>, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> sont activés successivement par l'antigène présenté par les molécules de CMH classe II des CPAs, puis par un signal de costimulation venant des CPAs. Ensuite, à

l'inverse, ces CPA peuvent être activées par les T CD4+ avec l'interaction CD40L-CD40 et devenir compétentes pour initier les T CD8+ par la voie CMH classe I restreinte, Elles secrètent des cytokines pour maintenir la fonction et la prolifération des CTL (Figure 7) (Banchereau et Steinman, 1998 ; Ridge et Di Rosa, 1998 ; Schoenberger *et al.*, 1998 ; Bennett *et al.*, 1998 ; Wang, 2001).



**Figure 7 :** Rôle des cellules T CD4+ dans la modulation des réponses immunes anti-tumorales (Wang, 2001).

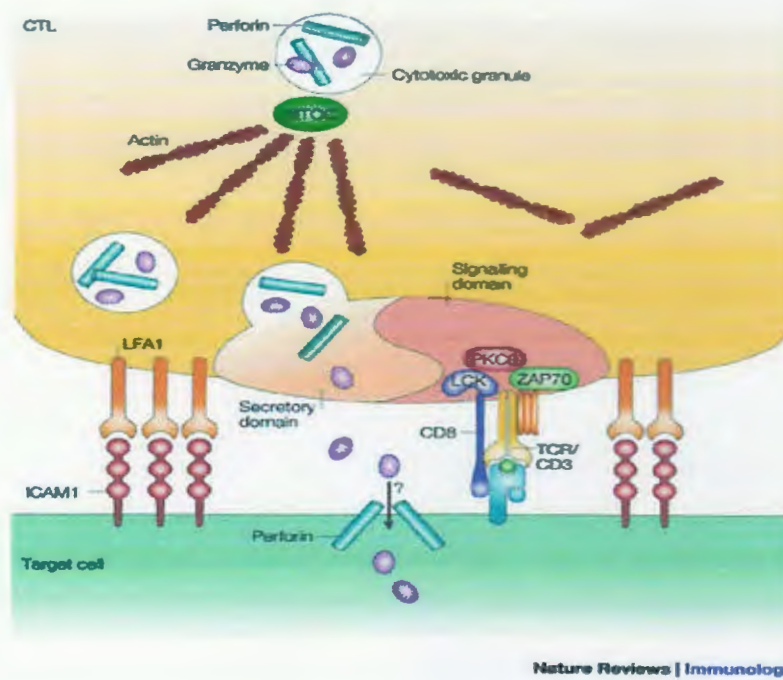
### B- Les lymphocytes T CD8+

Il y a donc nécessité pour activer les lymphocytes T naïfs en CTL antitumoraux d'avoir plusieurs paramètres réunis : la présentation d'antigènes tumoraux accompagnée de molécules de costimulation et la présence de cytokines favorisant la voie Th 1 (Bouet et Catros, 2004).

La différenciation des LT CD8+ en CTL implique l'acquisition de fonctions cytotoxiques. La reconnaissance des cellules tumorales par les CTL conduit généralement à la lyse des cibles par plusieurs mécanismes (Kagi et Vignaux, 1994 ; Barry et Bleackley, 2002).

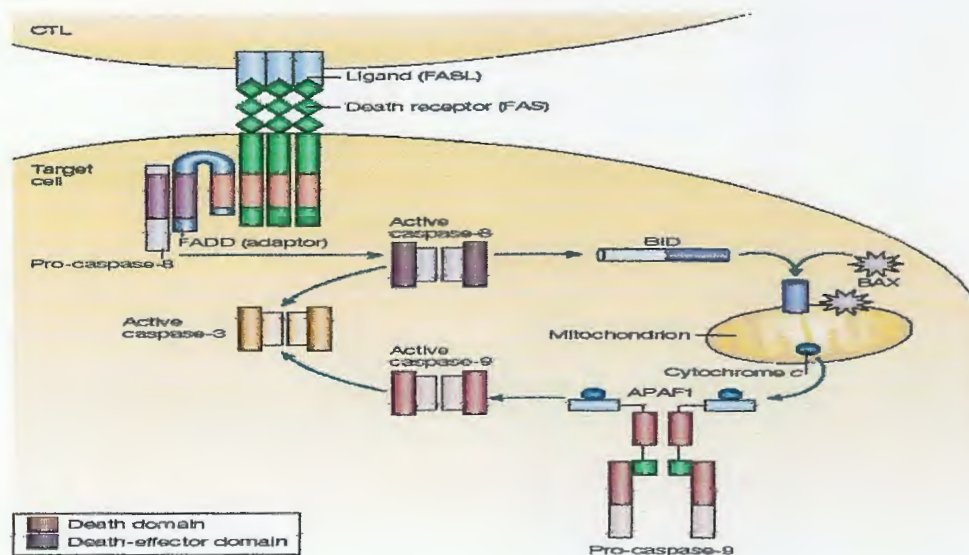
Rappelons également que le système perforine-granzyme (système de dégradation enzymatique) et l'interaction entre Fas (récepteur apoptotique) et son ligand sont deux mécanismes majeurs dans la lyse par apoptose des cellules tumorales (Paul et Régulier, 2002).





**Figure 8 :** La perforine et les granzymes sont libérés au niveau de la synapse Immunologique (Lieberman, 2003).

D'une manière générale les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> cytotoxique peuvent éliminer les cibles tumorales en libérant leurs granules qui contiennent des sérines estérases et de perforine. Par ailleurs, certaines lignées tumorales peuvent exprimer de manière constitutive le récepteurs Fas impliqué dans la transduction de signaux de mort cellulaire programmée ou apoptose. La destruction de ces cellules tumorales peut donc être déclenchée par l'interaction avec le ligand de Fas dont on sait qu'il est exprimé à la surface de lymphocytes T activés (Chatenoud *et al.*, 2008).



**Figure 9 :** Induction de l'apoptose par FasL (Barry et Bleackley, 2002).

Les CTLs peuvent aussi exprimer leur cytotoxicité par la sécrétion des cytokines comme l'IFN- $\gamma$ , le TNF- $\alpha$  et le TNF- $\beta$  qui contribuent à la défense anti-tumorale par différents mécanismes. L'IFN- $\gamma$ , souvent associé aux TNF, peut avoir une activité cytotoxique directe contre certaines tumeurs (Williamson et Carswell, 1983 ; Fransen et Heyden, 1986).

### II-2-2-2- Les lymphocytes B (LB)

Les effecteurs de la réponse humorale, peuvent jouer le rôle d'une CPA dans la réponse antitumorale. Les LB activés se différencient en plasmocytes producteurs d'anticorps. Les anticorps sécrétés par ces plasmocytes contribuent à la réponse humorale anti-tumorale (Glennie et Johnson, 2000 ; Ostrand-Rosenberg, 2008).

L'administration de ces anticorps ou d'anticorps génétiquement modifiés, permet dans certains cas d'induire la lyse des cellules tumorales par l'intermédiaire du complément ou par un mécanisme d'ADCC (Paul et Régulier, 2002).

### II-2-2-3- Les lymphocytes T régulatrices

Il s'agit de T régulateurs activés par les cellules dendritiques tolérogènes qui participent à l'équilibre de tolérance du soi. Ils pourraient contribuer à la tolérance du cancer. Ces lymphocytes peuvent présenter un phénotype T CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup> et représentent environ 10 % des lymphocytes T matures. Produisent souvent de l'IL-10 et/ou du TGF- $\beta$  et sont capables de supprimer à la fois les réponses immunes Th1 et Th2 (Bouet et Catros, 2004 ; Workman et Szymczak-Workman, 2009).

## II-3- Échappement tumoral à la réponse immunitaire

De nombreux travaux ont mis en évidence différents mécanismes moléculaires permettant à la tumeur d'échapper ou d'interférer avec la réponse immunitaire antitumorale. Ces mécanismes d'échappement peuvent être classés en plusieurs catégories (El Hage *et al.*, 2008).

### II-3-1- La perte d'expression du CMH

La perte partielle ou complète de l'expression de la molécule du CMH de classe I représente un mécanisme classique d'échappement tumoral pour résister à la lyse par les lymphocytes TCD8 spécifiques. Les mécanismes relatifs à ces altérations du CMH I sont nombreux et sont liés pour la plupart à des déficits concernant les étapes de leur synthèse. Ils peuvent trouver leur origine dans une mutation ou une délétion de la  $\beta$ 2-microglobuline qui est indispensable pour la formation et l'expression des molécules du CMH de classe I (D'Urso et Wang, 1991; Gattoni-Celli et Kirsch, 1992 ; Bicknell et Rowan, 1994 Seliger et Cabrera, 2002 ; Zitvogel et Tesniere, 2006).

La perte totale des molécules CMH-I ne favorise pas nécessairement le développement tumoral car elle augmente l'efficacité des cellules NK en l'absence des signaux inhibiteurs induits par la reconnaissance du CMH-I. Par contre, la perte d'un locus ou d'un allèle peut en

réalité abolir toute immunogénicité à l'égard des LT, en inhibant la présentation d'un ou plusieurs épitopes dominants, tout en conservant aux cellules tumorales leurs aptitudes à inhiber les cellules NK grâce aux récepteurs inhibiteurs reconnaissant les molécules de CMH-I (Torres et Ruiz-Cabello, 1996; Bontkes et Walboomers, 1998).

### II-3-2- L'altération de la présentation antigénique

Dans certains cas, on assiste uniquement à une diminution d'expression des molécules CMH-I due à des défauts au niveau des gènes du CMH, de l'apprêtement antigénique ou encore du transport des peptides (El Hage *et al.*, 2008). Un assemblage correct des molécules du CMH I et la présentation effective de peptides sont dépendants de la génération de ces peptides par le protéasome et de leur transport dans le réticulum endoplasmique (RE) (Zitvogel et Tesniere, 2006).

Les protéasomes sont des organites cytoplasmiques qui participent à l'apprêtement des protéines endogènes en les clivant et en fournissant ainsi les peptides qui seront pris en charge par les HLA de classe I. Les sous unités qui composent les protéasome peuvent changer ainsi que leur spécificité de clivage. Il est ainsi possible que les nouveaux peptides produits dans ces conditions soient incapable de se lier aux HLA ou d'être reconnus par les cellules T (Chapel *et al.*, 2004)

Il peut exister aussi une absence des molécules transporter activated peptide (TAP), ces molécules participent activement au transport des peptides du cytoplasme vers le réticulum endoplasmique où les peptides peuvent s'associer aux molécules de CMH. Cette association est essentielle et permet l'expression du message antigénique spécifique et la stabilisation des complexes CMH-peptides à la surface cellulaire (Restifo et Esquivel, 1993 ; Cromme et Airey, 1994 ; Chen et Gabrilovich, 1996).

### II-3-3- Les molécules de co-stimulation

Les molécules de costimulation comme B7 à la surface des cellules dendritiques, nécessaires au second signal d'activation des lymphocytes T spécifiques, sont souvent absentes ou sous-exprimées dans les situations tumorales. L'absence de ce signal de costimulation entraîne une anergie du lymphocyte T. Le blocage *in vitro*, de ce dernier inhibe l'activation des lymphocytes T et induit un état d'insensibilité spécifique à l'antigène (Chaux et Favre, 1997 ; El Hage *et al.*, 2008).

De nombreuses études chez l'animal ont montré que des transfections de cellules tumorales permettant l'expression de CD80, ou de cytokines ont permis le développement d'une réponse immunitaire antitumorale protectrice. L'absence de l'expression de CD80 ou de la sécrétion de cytokines pourrait être associée à une absence du signal de danger (HSP, internalisation de corps apoptotiques...) conduisant à un déficit d'activation des cellules dendritiques (DC) (Zitvogel et Faure 1999).



### II-3-4- La résistance à l'apoptose

Le système FasL/Fas joue un rôle important dans le blocage de la réponse immunitaire en induisant l'apoptose des lymphocytes après leur prolifération à la suite d'une forte stimulation antigénique. Les cellules tumorales sont capables de détourner la machinerie cellulaire des lymphocytes afin d'inhiber leur capacité cytotoxique (Paul et Régulier, 2002).

Plusieurs mécanismes ont ainsi été décrits, parmi lesquels un défaut d'expression de Fas au niveau des cellules tumorales. En effet, il a été montré que cette expression est fréquemment diminuée, voire totalement absente, dans plusieurs types de tumeurs. Ou par l'inhibition de son expression par l'oncogène ras. L'expression d'un récepteur Fas soluble (DcR3), capable d'empêcher les lymphocytes exprimant le FasL (T et NK) d'atteindre leur cible cellulaire exprimant Fas (Paul et Régulier, 2002 ; El Hage *et al.*, 2008).

Les lymphocytes T, après activation, portant à leur surface la molécule Fas (CD95) qui déclenche leur apoptose lorsqu'elle interagit avec son ligand. On a trouvé le ligand de Fas sur diverses tumeurs. Il repose sur une activité enzymatique qui prive les lymphocytes d'un nutriment essentiel, le tryptophane. L'indoleamine 2,3-désoxygénase (IDO) dégrade cet acide aminé essentiel à la fonction lymphocytaire. On a constaté que la plupart des tumeurs humaines expriment l'IDO. En bloquant l'IDO par un inhibiteur spécifique, le 1-méthyletryptophane (1MT), substance considérée comme non toxique (Chapel *et al.*, 2004).

Les protéines de la famille *inhibitor of apoptosis* (IAP), inhibiteurs des caspases 3, 7, 9, peuvent contrôler l'apoptose mitochondriale induite par la molécule Fas (Paul et Régulier, 2002).

La résistance à la lyse tumorale induite par des effecteurs cytotoxiques via la voie perforine-granzymes a été démontrée dans différents modèles tumoraux. Les mécanismes régissant cette résistance interfèrent avec les voies de signalisation pro-apoptotiques menant habituellement à la mort par apoptose des cellules cibles. Des travaux récents ont ainsi mis en évidence l'échappement à la lyse spécifique de tumeurs exprimant la serpine PI9/SPI6, un inhibiteur cellulaire du granzyme B (El Hage *et al.*, 2008).

### II-3-5- La production de molécules immunosuppressives

#### II-3-5-1- Le facteur de croissance transformant bêta : TGF- $\beta$

Le TGF $\beta$  (transforming growth factor beta), sécrété par de nombreuses tumeurs humaines, possède des caractéristiques inhibitrices modulant négativement les réponses immunes antitumorales. Des mutations survenant au niveau de la voie de signalisation du TGF $\beta$  permettent une prolifération incontrôlée des cellules tumorales dans plusieurs cancers. De plus, la sécrétion de TGF $\beta$  par les cellules cancéreuses est considérablement amplifiée, elle contribue à l'invasion tumorale et stimule l'angiogenèse (El Hage *et al.*, 2008).

Le TGF- $\beta$  inhibe la prolifération, induit la différenciation et favorise l'apoptose de la cellule normale. Ce point des relations entre contrôle immunitaire local et angiogénèse est particulièrement important. Le TGF $\beta$  favorise la croissance tumorale, augmente l'angiogénèse et induit une inhibition des cellules immunocompétentes (Patarad *et al.*, 2002 ; Bouet et Catros, 2004).

Le TGF- $\beta$  inhibe les lymphocytes T CD4 naïfs mais son effet est faible sur les lymphocytes T CD4 actives quelque soit leur type de différenciation (Th1 ou Th2). Ceci s'explique par la diminution de l'expression de TGF- $\beta$  R-II, Ainsi, il inhibe l'acquisition des fonctions helper des lymphocytes CD4+ en présence d'IL-2 dont la prolifération n'est pas affectée (Sad et Mosmann., 1994 ; Gorelik et Fields, 2000 ; Cottrez et Groux, 2001).

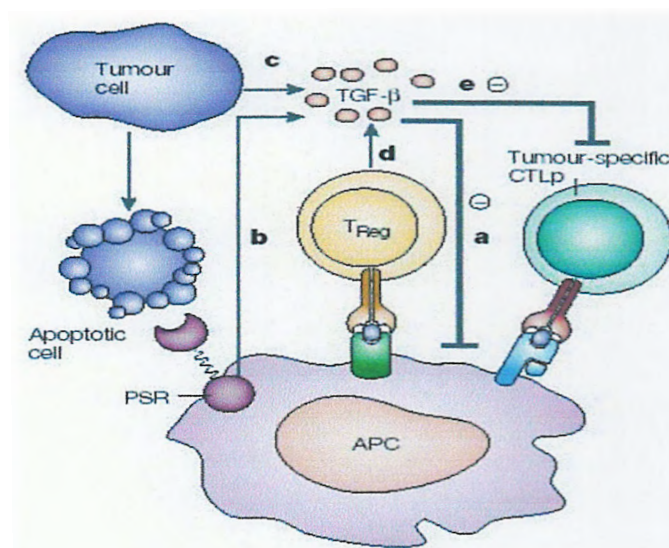


Figure 10 : Inhibition de la réponse anti-tumorale par TGF- $\beta$  (Gorelik et Constant, 2002).

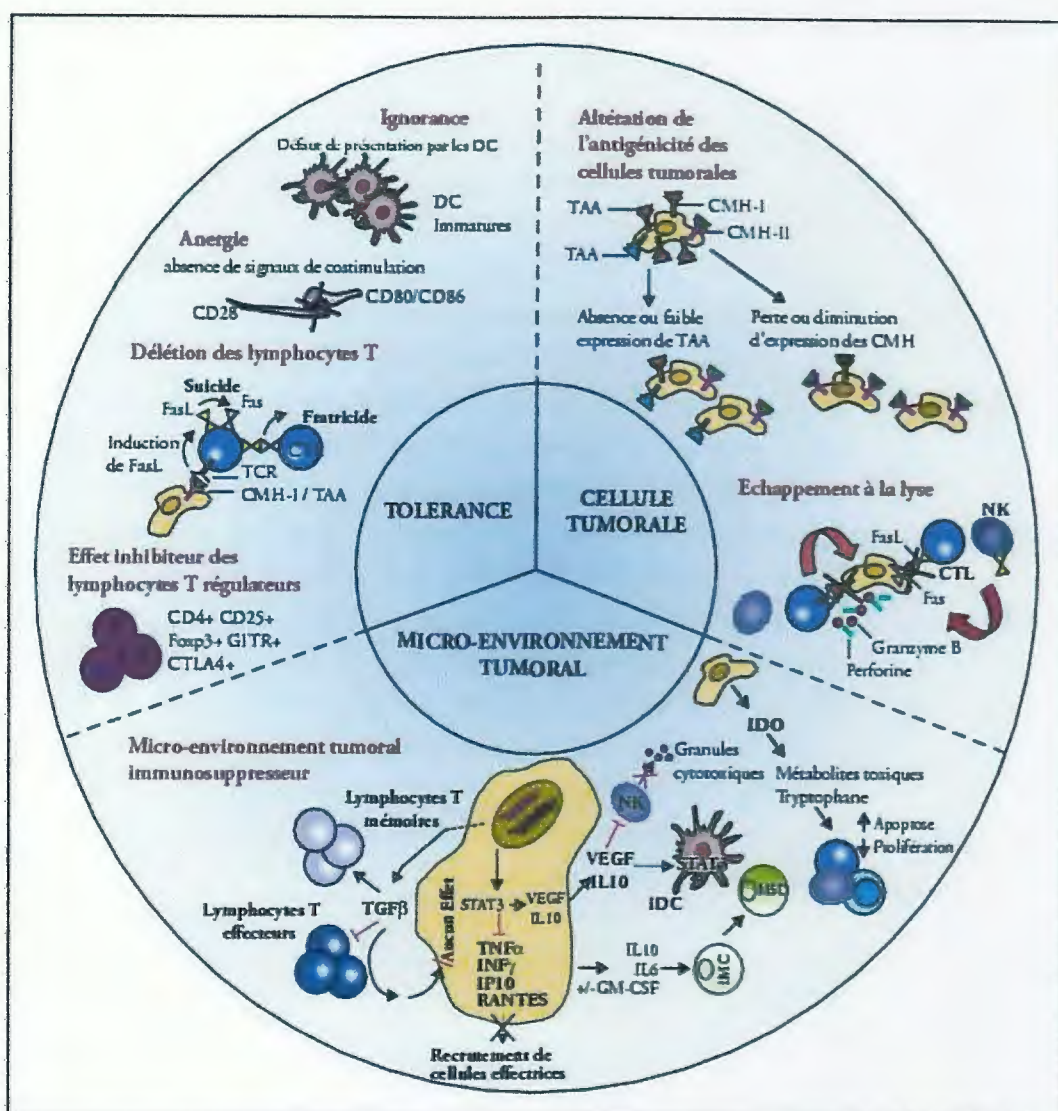
### II-3-5-2- Interleukine-10

L'IL-10 est également capable d'inhiber la prolifération, la synthèse d'IL-2, d'IFN- $\gamma$  et de TNF- $\alpha$  par les lymphocytes T CD4+. Enfin, cette cytokine a été impliquée dans la diminution des molécules de CMH de classe I et des molécules d'adhésion (ICAM-1) par les cellules tumorales, altérant leur reconnaissance et donc leur lyse par les CTLs (Yue, 1997 ; Moore *et al.*, 2001).

Elle permet la diminution de la présentation d'antigène par les CPAs, l'inhibition de la réponse des lymphocytes T de type Th1, l'extinction de l'activité cytotoxique des CTLs et la résistance des cellules tumorales à la lyse par les CTLs (Chouaib et Asselin-Paturel, 1997 ; Sharma *et al.*, 1999).

Elle inhibe la reconnaissance immunitaire et empêche aussi la maturation des CPAs en réprimant l'activité du facteur de transcription NF- $\kappa$ B (Ohm et Carbone, 2001 ; Oyama et Ran, 1998). La figure 11 résume les mécanismes d'échappement de la cellule tumorale.





**Figure 11 : Mécanismes d'échappement tumoral à la lyse spécifique.** Mécanismes inhérents aux cellules tumorales : Des altérations de l'apprêtement et/ou de la présentation des peptides antigéniques par les cellules tumorales, permettent à ces cellules d'échapper à la lyse spécifique par les effecteurs cytotoxiques. Micro-environnement tumoral : Les cellules tumorales se caractérisent par une capacité à moduler les réponses inflammatoires et à s'adapter au micro-environnement dans lequel elles évoluent et qu'elles façonnent de manière à ce qu'il leur soit favorable. Mécanismes inhérents au système immunitaire ou tolérance : Plusieurs processus jouent en faveur d'un échappement tumoral à la réponse immunitaire. Parmi ces processus, 1) Une tolérance périphérique induite par une présentation antigénique par des DC immatures, en l'absence de signaux de dangers. 2) Une anergie lymphocytaire due à l'absence de signal costimulateur. 3) Une délétion des lymphocytes effecteurs. En effet, l'expression de FasL à la surface des cellules T est induite par l'activation des lymphocytes suite à la reconnaissance spécifique, via leur TCR, de complexes CMH/peptide présentés par les cellules cibles. Les lymphocytes sont alors capables de se tuer eux-mêmes (suicide) ou de tuer des lymphocytes avoisinants (fratricide) exprimant Fas. 4) Une inhibition de l'activation des lymphocytes T effecteurs par des Treg agissant directement au contact de ces lymphocytes ou en inhibant les CPA, induisant ainsi un état de tolérance périphérique (El Hage *et al.*, 2008).

*Chapitre III*  
*Immunothérapie*  
*et la thérapie*  
*Cellulaire Du*  
*cancer*

## Chapitre III- L'immunothérapie et thérapie cellulaire du cancer

Les stratégies thérapeutiques sont variées. Elles ont toutes pour objectif de lever l'anergie des cellules potentiellement réactives en les stimulant dans des conditions optimisées. Parmi ces traitements certains ont fait leurs preuves. C'est le cas de l'injection de cytokines. D'autres sont en cours d'évaluation clinique. C'est le cas des thérapies cellulaires ainsi que des vaccinations contre le cancer qui suscitent de réels espoirs car les résultats expérimentaux obtenus à ce jour ont été très significatifs (Papillon *et al.*, 2001).

### III-1- L'immunothérapie

L'immunothérapie vise à activer le système immunitaire dans le but d'éradiquer la tumeur sans affecter les cellules normales. L'objectif des différents protocoles d'immunothérapie est la génération et le maintien du potentiel lytique des effecteurs de la réponse immunitaire (Hage *et al.*, 2008).

L'immunothérapie passive, ou immunothérapie adoptive, ne vise pas à activer le système immunitaire de manière systématique *in situ*, mais fait appel à des effecteurs isolés et activés *in vitro* avant leur réinjection. L'immunothérapie active, ou immunothérapie adaptative, ou encore appelée « vaccination » mais qui reste thérapeutique, consiste à présenter un ou des antigènes dans un contexte idéal de stimulation afin de permettre le déclenchement d'une réponse immunitaire (Grégoire *et al.*, 2007).

#### III-1-1- L'immunothérapie passive

Ce terme concerne un domaine très large de la thérapie immunologique du cancer. Plusieurs « agents » peuvent être envisagés, telles les cytokines, et les anticorps monoclonaux (Grégoire *et Ebstein.*, 2007).

##### III-1-1-1- L'immunothérapie passive non spécifique

###### A- Le traitement par les interleukines

Les premiers essais de « l'immunothérapie anti-tumorale moderne » ont suscité beaucoup d'espoirs. Ils reposaient principalement sur l'administration systémique de fortes doses d'IL-2, associées à l'utilisation de lymphocytes du malade stimulés *in vitro* par l'IL-2 et extraits directement de la tumeur, puis ré-administrés au sujet. Les réponses observées en termes de régression tumorale étaient souvent partielles, parfois spectaculaires, mais les effets secondaires limitaient l'administration des doses thérapeutiques nécessaires (Papillon *et al.*, 2001).

De nombreuses études basées sur l'injection des cytokines telles que l'IL-2 administrée seule ou associée à des cellules cytotoxiques autologues, ont été conduites. L'IL-2 est en effet une cytokine bien connue pour sa capacité à favoriser la prolifération et la différenciation d'effecteurs cytotoxiques spécifiques (LT) et non spécifiques (NK activée). L'IL-2, qui permettent la différenciation et la prolifération des CD8<sup>+</sup> en CTL. Ces CTL produisent des



cytokines agissant sur différentes catégories cellulaires et assurant l'amplification de la réponse (Papillon *et al.*, 2001 ; Chatenoud *et al.*, 2008).

### B- Le traitement par les interférons (IFN)

De grandes quantités d'interférons IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  et IFN- $\gamma$  purifiés recombinant sont maintenant disponibles. On a montré que les trois types d'interférons augmentent l'expression des molécules de classe I du CMH sur les cellules tumorales ; on a aussi que l'injection de l'IFN- $\gamma$  augmente l'expression des molécules de classe II du CMH sur les macrophages. Enfin l'IFN- $\gamma$  augmente directement ou indirectement l'activité des cellules T cytotoxiques, des macrophages et des cellules NK qui jouent tous un rôle dans la réponse immunitaire contre les cellules tumorales. L'IFN- $\alpha$  stimule le système immunitaire mais peut également agir directement sur la cellule tumorale (Chatenoud *et al.*, 2008 ; kindt *et al.*, 2008).

### C- Le traitement par facteurs de nécrose tumorale (TNF)

Les facteurs de nécrose tumorale TNF- $\alpha$  et TNF- $\beta$  ont une activité antitumorale directe en tuant certaines cellules cancéreuses ou en réduisant la vitesse de prolifération d'autres. En présence de TNF- $\alpha$  ou de TNF- $\beta$ , une tumeur subit une nécrose hémorragique visible et une régression. On a montré aussi que le TNF- $\alpha$  inhibe la vascularisation induite (angiogenèse) en lésant les cellules endothéliales vasculaires au voisinage d'une tumeur et donc en diminuant l'influx du sang et de l'oxygène nécessaire à une croissance progressive du cancer (kindt *et al.*, 2008).

**Tableau 1** : Immunothérapie des tumeurs par l'administration de cytokines (Roitt *et al.*, 1994).

Cytokines	Type de tumeur et résultats	Mécanisme d'action
IFN- $\alpha$	Rémission prolongée de la leucémie à tricholeucocytes Faibles effets sur certains carcinomes	Effet cytostatique possible Augmente CMH classe I, cytostase
IFN- $\gamma$	Inefficace par voie générale, rémission des carcinomatoses péritonéales de l'ovaire	Augmente CMH classe I, activation des macrophages et des T cytotoxiques, cytostase
II-2	Rémission dans les adénocarcinomes rénaux et les mélanoblastomes	Activation et prolifération des lymphocytes T, activation des cellules NK
TNF- $\alpha$	Effet favorable sur les ascites malignes	Augmente de l'adhésion cellulaire Activation des macrophages et des lymphocytes

### III-1-1-2- L'immunothérapie passive spécifique

#### A- Le traitement par les anticorps monoclonaux

Les chargements structuraux dans les antigènes de surface des cellules tumorales peuvent être reconnus par les cellules B qui réagissent par la production d'anticorps spécifiques. Les anticorps monoclonaux spécifiques des antigènes tumoraux sont utilisés pour l'étude de la tumeur et un éventuel traitement (**Paraham, 2003**).

#### A-1- Traitement de la tumeur avec les anticorps seuls

Les premières applications thérapeutiques ont fait appel à des anticorps monoclonaux produits chez la souris (anticorps murins). L'utilisation thérapeutique des anticorps monoclonaux murins s'est rapidement heurtée à des problèmes tels que la survenue de rechutes dues à une élimination incomplète des cellules tumorales. De plus, ils provoquent la formation d'anticorps humains dirigés contre les immunoglobulines murines (HAMA ou *human anti-mouse antibody*) (**Bach, 2002 ; Bellet et Dangles-Marie, 2004 ; Ochsenein, 2008**).

Il s'agit tout d'abord de la possibilité de produire par génie génétique des anticorps monoclonaux dits « humanisés »:

-les anticorps chimériques formés par la combinaison de régions variables d'origine murine avec des régions constantes d'origine humaine.

-les anticorps remaniés consistent à incorporer des séquences hypervariables d'origine murine (*complementary determining regions* [CDR]) entre les séquences « charpentes » (*frameworks* [FR]) des régions variables d'immunoglobulines humaines. Ces séquences CDR sont celles qui interagissent préférentiellement avec l'antigène (figure 12) (**Bellet et Dangles-Marie, 2004 ; chatenoud et al., 2008**).

Ces anticorps monoclonaux exercent leurs fonctions à travers plusieurs mécanismes effecteurs, l'activation du complément, la lyse par les macrophages et les NK ou encore induisant des signaux transmembranaires menant à l'apoptose. Chacun de ces mécanismes peut jouer un rôle dans les réponses antitumorales induites par ces anticorps monoclonaux mais ces mécanismes ne sont pas encore bien connus (**Dougan et Dranoff., 2009**).

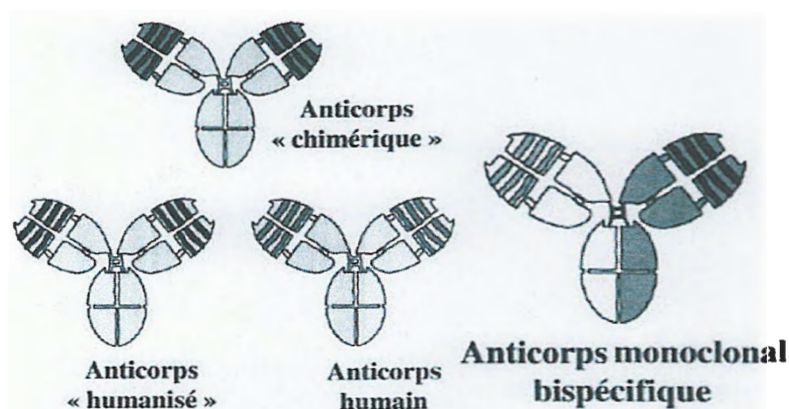


Figure 12 : Ingénierie des anticorps (Bellet et Dangles-Marie, 2004).

### A-2- Le traitement par les anticorps couplés à un agent

Ces anticorps peuvent être modifiés couplés à un isotope radioactif, à un médicament cytotoxique, à une toxine bactérienne ou végétale, ou bien un enzyme capable d'activer des prodrogues. Les anticorps monoclonaux servent alors de vecteur pour acheminer ces substances vers la tumeur (Révilard *et al.*, 2001).

Les conjugués de toxine biologique et d'anticorps sont appelés des immunotoxines (IT). Les immunotoxines sont activées uniquement après leur pénétration dans les cellules, ce qui devrait réduire le risque d'endommager les cellules non cancéreuses. Après leur fixation aux cellules tumorales, les immunotoxines sont endocytées. Une fois dans les endosomes, la toxine est séparée de l'anticorps par clivage enzymatique ce qui lui permet d'exercer son effet toxique (Paraham, 2003).

Les anticorps monoclonaux couplés aux radioisotopes méfient la suppression par altération de l'ADN par désintégration et la libération des particules à haut énergie. L'irradiation par les isotopes couplés aux anticorps provoque la lyse de cellules cibles mais aussi celle des cellules voisines (Lydyard *et al.*, 2002 ; Burmester et pezzutto, 2005).

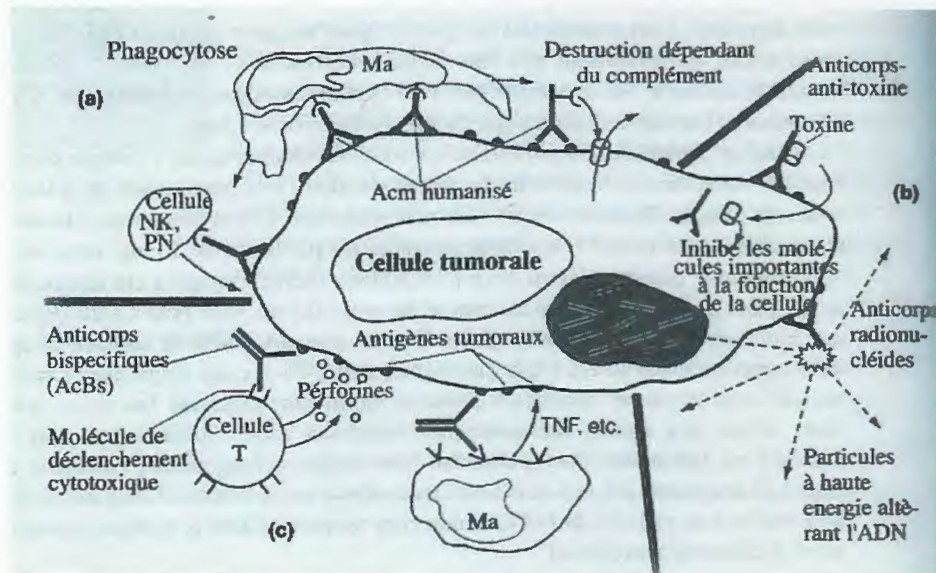
### A-3- Le traitement par les anticorps bispécifiques AcBs

Les anticorps bispécifiques (AcBc) constitués des sites de liaisons des deux anticorps monoclonaux différents liés par deux liaisons covalentes, ont été préparés comme traitement antitumorale (figure 12). Le premier site des AcBs concerne l'antigène, est dirigé contre un antigène tumoral alors que l'autre se lie à des effecteurs de la réponse immune tels que des cellules NK, des phagocytes, ou des lymphocytes T cytotoxiques (Lydyard *et al.*, 2002 ; Bellet et Dangles-Marie, 2004).

L'avenir de l'immunothérapie humorale anti-tumorale se situe peut-être dans les anticorps bifides (bispécifiques) qui activent et lient les lymphocytes T aux cellules tumorales qui expriment la molécule ciblée par le second site de l'anticorps. Induisant une lyse dirigée des



cellules tumorales par les lymphocytes T activés il est nécessaire que l'anticorps bispécifique se lie sur les cellules effectrices à des molécules capables d'activer ces cellules (Bellet et Dangles-Marie, 2004 ; Bargou *et al.*, 2008).



**Figure 13** : Thérapie anti-tumorale à base d'anticorps. (a) anticorps seul ; (b) anticorps toxines / radionucléiques ; (c) anticorps bispécifiques (Lydyard *et al.*, 2002).

### III-1-2- L'immunothérapie active

Des protocoles de vaccination développés en cancérologie ont un objectif thérapeutique chez un malade qui présente déjà une néoplasie. Le principal protocole d'immunothérapie active utilisé en clinique depuis 1976 reste actuellement l'instillation intravésicale de Bacille de Calmette Guérin (BCG). Après cette première génération de vaccins, une seconde génération a été développée grâce à la caractérisation chez l'homme des premiers antigènes de tumeurs (Bellet et Dangles-Marie, 2004).

#### III-1-2-1- L'immunothérapie active non spécifique

L'immunothérapie active non spécifique est fondée sur le principe d'une stimulation globale du système immunitaire chez des patients cancéreux. Un des principaux mécanismes d'action du BCG repose sur la production de cytokines. Elles peuvent aussi être liées à la réponse immunitaire des lymphocytes Th1. C'est le cas de l'INF et de l'IL-2. Ces dernières provoquent une activation des lymphocytes cytotoxiques et ont une valeur pronostique dans la réponse au BCG. En effet, il a été montré que le niveau urinaire d'IL-2 était significativement lié au risque de récurrence tumorale et de survie spécifique. Enfin, les cytokines peuvent être liées à la réponse des lymphocytes Th2 (Catros-Quemener *et al.*, 2003 ; Saint, 2008).

De nombreux adjuvants, y compris les souches atténués de *mycobacterium bovis*, appelé Bacille de Calmette Guérin (BCG), et de *corynebacterium parvum*, ont été utilisés pour renforcer l'immunité contre les tumeurs. Ces adjuvants activent les macrophages, en augmentant



leur expression de diverses cytokines, de molécules de classe II du CMH et de la molécule B7 de costimulation (**kindt et al., 2008**).

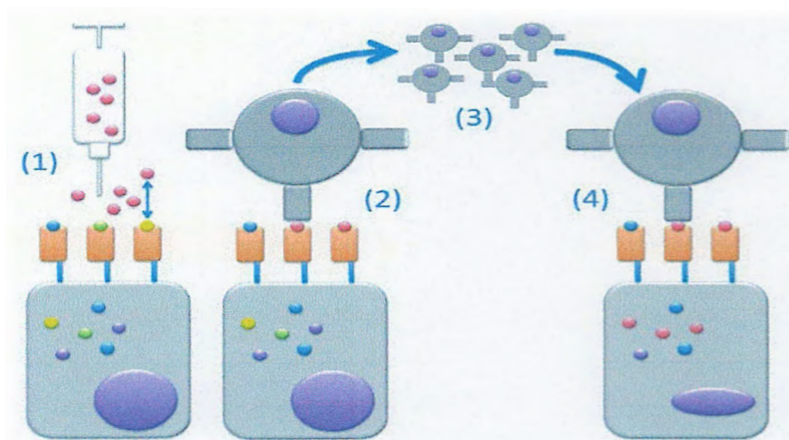
Ce traitement serait à l'origine de réaction inflammatoire activent des cellules présentatrices d'antigènes qui phagocytent les cellules tumorales résiduelles et présentent leurs antigènes aux lymphocytes (**Burmester et Pezzutto., 2005**).

### III-1-2-2- L'immunothérapie active spécifique

#### A- Le traitement par les antigènes de tumeurs

L'identification d'antigènes associés aux tumeurs a permis le développement d'essais cliniques de vaccinothérapie. Certains de ces essais utilisent des peptides, seuls ou en association, d'autres utilisent des extraits de tumeur autologue. Les antigènes sont, selon les essais, utilisés directement ou après chargement sur des CPA. Actuellement, des essais sont menés avec des antigènes de tumeur qui ont été fusionnés avec des ligands de la surface des cellules dendritiques, comme des chimiokines ou des fragments Fc d'immunoglobulines par exemple, pour adresser cet antigène à la cellule dendritique vers sa cible (**Catros-Quemener et al., 2003 ; Grégoire et Ebstein, 2007**).

La vaccination peptidique est l'une des premières approches d'immunothérapie spécifique, il s'agit d'un processus actif où une population de lymphocytes T CD8+ spécifiques est stimulée par l'injection dans le tissu des peptides (figure 14). Les peptides ont été combinés avec des adjuvants de la réponse immune ou combinés avec des cytokines comme le GM-CSF qui peut aider au recrutement des cellules dendritiques ou comme l'IL2 qui est un facteur de croissance des lymphocytes T (**Bellet et al., 2004 ; Olivier et al., 2008**).



**Figure 14 :** Principes de la vaccination peptidique (1) Le peptide (sphère rouge) est injecté en sous-cutané sous forme d'une émulsion incluant l'adjuvant dans un membre sain. (2) Le peptide est présenté par les cellules dendritiques locales aux lymphocytes T CD8+. (3) Les lymphocytes T CD8+ spécifiques stimulés se multiplient. (4) Les lymphocytes T CD8+ attaquent la cellule tumorale qui présente le peptide de manière endogène (**Olivier et al., 2008**).

L'utilisation de lysats tumoraux présente l'intérêt majeur d'être a priori applicable à toutes les tumeurs, même si les antigènes de ces tumeurs ne sont pas identifiés et sans nécessité pour le patient d'appartenir à un groupe HLA particulier (**Catros-Quemener et al., 2003**).

On a recours également aux protéines de stress extraites des cellules tumorales. On pense que ces molécules agissent comme chaperonnes durant l'assemblage des complexe CMH-peptide ; elles apporteraient les peptides produits durant l'apprêtement (**Roitt et al., 2002**).

### **III-2- La thérapie cellulaire**

Les stratégies de thérapie cellulaire sont à l'étude actuellement. Il s'agit soit d'injecter des lymphocytes, soit de vacciner les patients avec des cellules dendritiques, des NK, des macrophages, ou avec des cellules tumorales, ou encore des approches à base de cellules souches mésoenchymateuses (**Abastado, 2003 ; Bouet et Catros, 2004**).

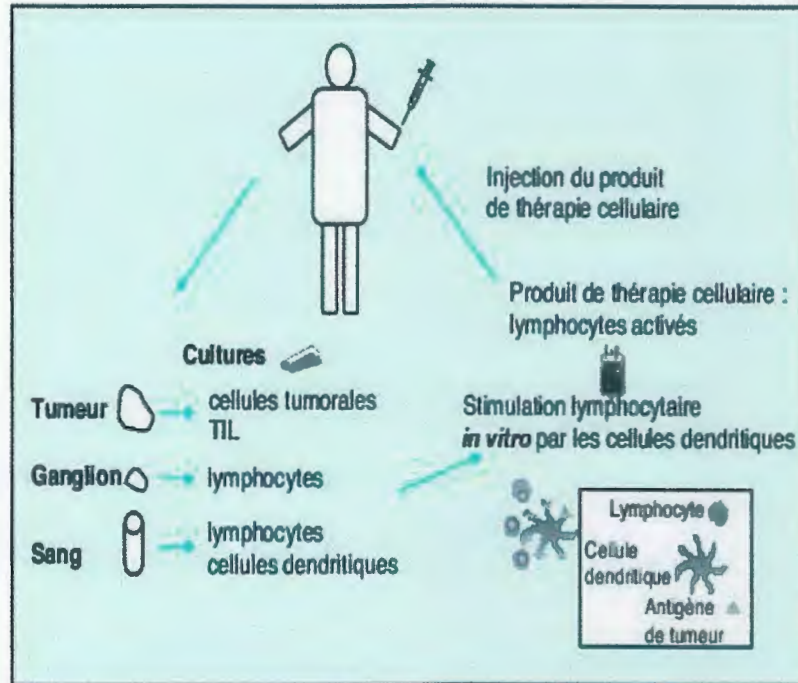
#### **III-2-1- La thérapie cellulaire par injection des cellules immunitaires**

##### **III-2-1-1- L'injection des lymphocytes**

Consiste à transférer des LT autologues fonctionnels à un animal d'expérience ou un individu incapable de développer une réponse immune à l'égard d'un antigène. Ces LT sont isolés de l'individu cancéreux puis amplifiés et manipulés *in vitro* avant d'être réinjectés, permettant alors l'induction de l'immunité antitumorale (**Mackensen et al., 2006**).

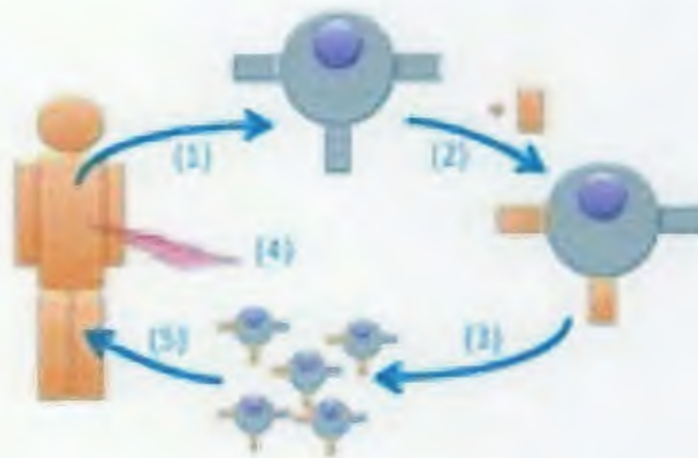
La plupart des méthodes d'induction et/ou de restimulation *in vitro* actuelles ont pu être optimisées par l'utilisation de peptides antigéniques. L'une des approches les plus efficaces consiste à cultiver des CD autologues chargées avec le peptide d'intérêt avec la fraction lymphocytaire T CD8<sup>+</sup> purifiée (**Angevin et al., 2000**).

Des populations des cellules T extraites de sites tumoraux peuvent aussi être amplifiées et les activer *in vitro* en présence de cellules tumorales ou d'antigènes spécifiques de tumeurs, puis de réinjecter au patient en présence ou non d'IL-2 (Figure15) (**chatenoud et al., 2008 ; Lydyard et al., 2002**).



**Figure 15 :** Préparation du produit de thérapie cellulaire (Bouet et Catros, 2004).

Le transfert adoptif permet des modifications des lymphocytes prélevés, comme illustré dans la (figure 16). Un TCR particulier peut en effet être incorporé dans les lymphocytes du patient pour procurer une spécificité immunitaire particulière. Des travaux récents ont montré qu'une telle stratégie était faisable et que les cellules modifiées pouvaient survivre une fois réimplantées chez le patient. Toutefois, le pool des lymphocytes circulants peut ne pas contenir de TCR de haute affinité pour un complexe peptide-CMH donné. Il peut être intéressant de modifier rationnellement la séquence du TCR afin d'augmenter son efficacité. La finalité est la génération de TCR optimisés pour différents complexes peptide-CMH (Michielin *et al.*, 2008).



**Figure16 :** Schéma général d'une approche thérapeutique par transfert adoptif avec lymphocytes modifiés (1) Des lymphocytes T CD8+ sont prélevés chez le patient. (2) Ils sont transfectés avec un TCR optimisé. (3) Ces cellules transfectées sont multipliées *in vitro*. (4) Un conditionnement est effectué chez le patient. (5) Les cellules sont réinjectées (Michielin *et al.*, 2008).



### III-2-1-2 L'injection des cellules dendritiques (DC)

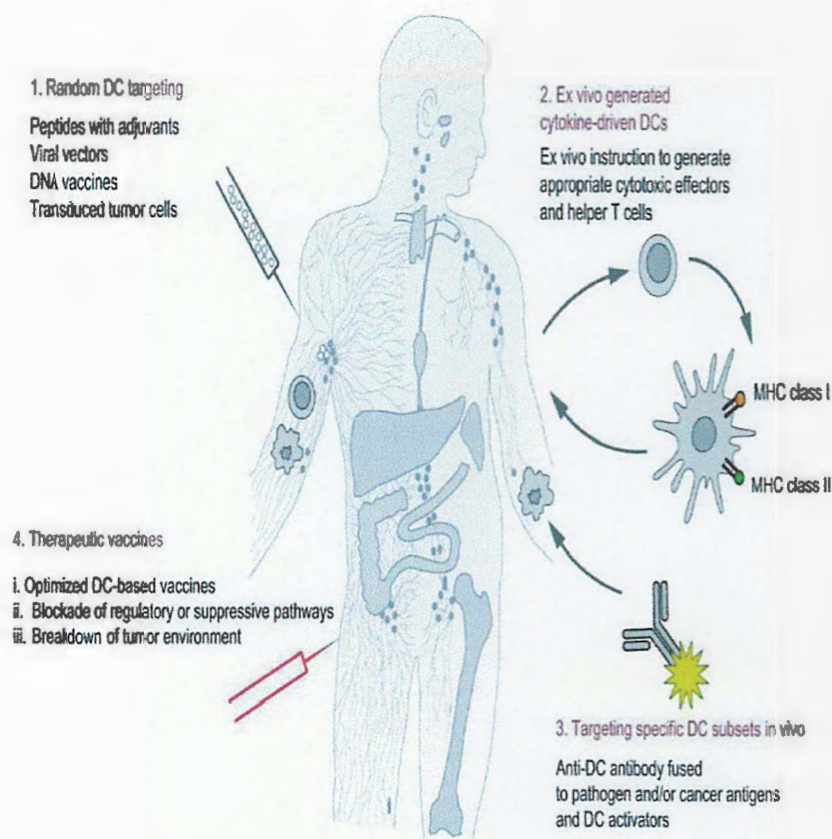
La première démonstration des propriétés vaccinales des cellules dendritiques a été apportée par Dhodapkar *et al*, qui ont rapporté qu'une injection unique de cellules dendritiques produites *in vitro* à partir de monocytes. Sont classiquement cultivées pendant sept jours en présence de GM-CSF et d'IL-4 afin de les différencier en DC immatures. Par la suite, les cellules sont incubées avec des Ag tumoraux puis avec un cocktail de cytokines permettant leur maturation (Eymard et Bernard, 2003 ; Mazouz *et al.*, 2005).

L'aptitude particulière des DC à susciter les réponses des cellules T a inspiré de nombreuses stratégies immunothérapeutiques basées sur l'induction de réponses immunitaires spécifiques et protectrices par injection de DC isolées. Peuvent être chargées avec des peptides tumoraux, des extraits de cellules tumorales, des corps apoptotiques, ou encore être fusionnées avec des cellules tumorales (Catros-Quemener *et al.*, 2003 ; Delves *et al.*, 2008).

Enfin l'utilisation récente comme agent vaccinal d'exosomes de cellules dendritiques chargées avec des peptides tumoraux présentés par les molécules de CMH de classe I et II a montré des résultats efficaces *in vitro* pour induire des réponses immunes par des LT spécifiques. De plus, ces approches donnent des résultats encourageants *in vivo* (Wolfers et Lozier, 2001 ; Escudier et Dorval, 2005).

Dans la mesure où les épitopes tumoraux de classe II sont rares, une stratégie alternative plus simple basée sur le co-chargement de la cellule dendritique avec la molécule *helper* KLH (*keyhole limpet hemocyanin*) a récemment été développée pour induire et polariser une puissante réponse Th1 et amplifier ainsi les faibles réponses T cytotoxiques spécifiques (Eymard et Bernard., 2003).





**Figure 17 :** Différentes approches de vaccins ciblant ou utilisant les DC (1) ciblage aléatoire des DC *in vivo* par l'injection d'Ag sous différentes formes, en présence ou non d'adjuvant. (2) DC générées de façon optimale *ex vivo* et réinjectées aux patients. (3) ciblage spécifique des DC *in vivo* par des Ac anti-DC liés à des Ag et par des activateurs de DC. (4) Les essais cliniques du futur combineront des vaccins DC optimisés avec des stratégies bloquant les Treg et brisant le microenvironnement tumoral suppressif (Palucka *et al.*, 2009).

### III-2-3- L'injection des cellules NK

Nous avons déjà fait allusion à l'importance possible des cellules NK dans la surveillance et la lyse des tumeurs ; il est donc naturel de considérer qu'*in vivo* l'expansion ou le transfert d'un grand nombre de cellules NK activées pourrait être bénéfique (Delves *et al.*, 2008).

Les lymphocytes sanguins périphériques d'un patient porteur d'une tumeur sont cultivés dans l'IL-2 pour faire proliférer et activer les LAK (*lymphokine activated killer*) cytotoxiques. Celle-ci sont principalement des cellules NK et donc ne possédant pas la spécificité des cellules T mais plutôt réagissent et tuent les cellules tumorales qui expriment peu ou pas des molécules de CMH I. les cellules LAK peuvent être réinjectées à un individu avec ou sans l'IL-2 (Lydyard *et al.*, 2002).

Les LAK sont des lymphocytes capables d'induire une lyse de cellules tumorales mais non celle de cellules normales. Ils se distinguent des cellules NK présentes dans les préparations lymphocytaires par leur habilité à lyser des cellules tumorales résistantes aux cellules NK. L'activité LAK n'est pas restreinte à un type cellulaire, mais correspond plutôt à une population

cellulaire hétérogène d'activité cytolytique variable (Rosenstein *et al.*, 1984 ; Phillips et Lanier, 1986).

#### III-2-1-4- L'injection des macrophages

Suite aux travaux montrant la possibilité de produire des cellules immunocompétentes à visée cytotoxique par culture *ex vivo* comme les LAK ou les TIL mais induisant une toxicité majeure du fait de l'utilisation concomitante d'IL-2 à fortes doses, des équipes se sont intéressées dans les années 90 aux macrophages susceptibles d'entraîner une destruction tumorale pour une moindre toxicité (Eymard *et al.*, 1996 ; Lesimple *et al.*, 2000).

Les cellules de la lignée macrophage différenciées *in vitro* à partir de monocytes puis activées par l'interféron  $\gamma$ , acquièrent une puissante activité antitumorale mesurable *in vitro* et dont l'efficacité thérapeutique a été démontrée dans plusieurs modèles animaux. Ces cellules sécrètent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires, telles que le TNF- $\alpha$ , mais peuvent également reconnaître et tuer les cellules tumorales sans affecter les tissus sains. Nous avons voulu exploiter ce pouvoir antitumoral pour traiter des patients atteints de cancers avancés (Abastado, 2003).

#### III-2-2- La thérapie cellulaire par injection des cellules tumorales

Les cellules cancéreuses sont utilisées comme source d'Ag dans le but d'augmenter l'immunogénicité de la tumeur. Elles peuvent être réinjectées après avoir été irradiées ou lysées en combinaison ou non avec des adjuvants (Wallack *et al.*, 1992 ; Dillman *et al.*, 2002).

La vaccination par cellules tumorales consiste à injecter des cellules cancéreuses autologues ou allogéniques inactivées, associées à un adjuvant, dans le but de potentialiser la réponse immunitaire. L'utilisation de cellules tumorales autologues est conceptuellement satisfaisante, car elle est à même d'entraîner une réponse immune polyclonale. Néanmoins, il faut noter que l'extraction et la purification de cellules tumorales présentent des difficultés techniques (Berd, 2002).

Pour tenter d'amplifier la réponse immunologique, le rationnel a été modifié par l'utilisation de cellules allogéniques. Les avantages de cette approche par rapport à l'emploi de cellules autologues sont, d'une part, la facilité de production du matériel cellulaire et, d'autre part, l'induction d'une réaction immunitaire antitumorale potentiellement plus importante par des cellules *a priori* plus immunogènes (Eymard et Bernard, 2003).

#### III-2-3- La thérapie cellulaire par injection des cellules souches mésenchymateuses (CSM)

*In vitro*, les cellules souches mésenchymateuses humaines et murines peuvent ainsi endocyter une protéine extracellulaire telle l'albumine de poulet (ovalbumine), la dégrader en peptides immunogéniques et présenter ces peptides sur les molécules d'histocompatibilité majeurs de type II afin d'activer, à l'aide de l'expression du costimulateur, les lymphocytes T de type CD4

spécifiques à cet antigène. Les cellules souches mésenchymateuses possèdent donc le double potentiel d'inhiber ou d'activer une réponse immunitaire, selon la nature des stimuli présents dans leur microenvironnement. Les CSM migrent et prolifèrent au niveau des sites inflammatoires et des tumeurs. Ce comportement des CSM a été exploité pour une stratégie de ciblage tumoral dans le cadre de thérapies cellulaires anti-cancéreuses (**Pomme et Galipeau, 2006 ; Wang *et al.*, 2009 ; Matuskova *et al.*, 2009**).

Nous avons ainsi démontré que les CSM peuvent induire *in vivo* une réponse immunitaire cellulaire spécifique à un antigène, suffisamment efficace pour prévenir le développement tumoral. Ainsi, l'utilisation de CSM génétiquement modifiées permettrait potentiellement de cibler de multiples antigènes tumoraux, d'augmenter leur capacité d'activation des lymphocytes T de type CD8 ou d'augmenter leurs propriétés de costimulation (**Pomme et Galipeau, 2006**).

Ces modifications permettent de cibler les tumeurs mais elles permettent également la sécrétion au niveau tumoral de différentes protéines thérapeutiques telles que l'IFN- $\alpha$ , l'IL-2, l'IL-12, la sécrétion de prodrogues activant des gènes suicides (**Nakamura *et al.*, 2004 ; Hamada *et al.*, 2005 ; Nakamizo *et al.*, 2005 ; Aboody *et al.*, 2008**).

Les cytokines telles que l'IL-2, l'IL-12 et l'IFN- $\beta$  peuvent stimuler la réponse antitumorale à travers l'activation des lymphocytes T qui provoque une réponse immunitaire pour détruire les tumeurs (**Hu *et al.*, 2010**).

### III-3- La thérapie génique

Dans le cadre des maladies cancéreuses, les stratégies de thérapie génique sont: le remplacement de gènes manquants ou non-fonctionnels, la modification de la réponse de l'hôte à l'égard de la tumeur, la production de substances pharmacologiques (**Martinet *et al.*, 1999**).

#### III-3-1- Transfert d'un gène suicide

Cette stratégie consiste à transférer dans la cellule cancéreuse un gène dont le produit est capable de transformer une prodrogue (un précurseur de drogue) en drogue cytotoxique. En revanche, les cellules tumorales qui elles se divisent activement sont infectées par le rétrovirus et intègrent le gène «tueur» (**Etienne *et al.*, 2006**).

De plus, l'administration secondaire de la ou des prodrogues doit permettre d'abolir la réplication virale en favorisant la lyse rapide des cellules infectées, ce qui est très important pour la sécurité de la procédure (**Grill *et al.*, 2003**).

Le transfert d'un gène « suicide » dans une cellule tumorale a montré un effet antitumoral dépendant de la réponse immune de l'hôte. Ainsi, les cellules malignes transfectées par le gène « suicide » sont sensibilisées à une pro-drogue. Le gène de la thymidine-kinase (TK) du virus *herpes simplex* [HSVtk] code pour une enzyme capable de transformer un précurseur non



toxique (le ganciclovir) en un produit toxique (ganciclovir triphosphaté, dans le cas de HSVtk) pour la cellule (Leclercq *et al.*, 1999 ; Collinet *et al.*, 2000).

### III-3-2- Modification des cellules tumorales

Les techniques modernes de transfert de gène permettent désormais d'améliorer l'immunogénicité des cellules tumorales et les rendent visibles par le système immunitaire une fois réinjectées (Rousseau *et al.*, 2006).

L'injection de cellules tumorales génétiquement modifiées a pour but de détruire des cellules tumorales non génétiquement modifiées en induisant ou en stimulant une réponse immune antitumorale dirigée contre des antigènes présents à la surface de ces dernières (Leclercq *et al.*, 1999).

L'augmentation des molécules CMH de classe I à la surface des cellules tumorales, par transfection des gènes du CMH de classe I dans les tumeurs, diminue la tumorigénicité dans les modèles murins, vraisemblablement par augmentation de la présentation de l'antigène aux lymphocytes T CD8+. L'introduction de gènes de molécules de classe II du CMH, dans certains modèles de tumeurs murines, entraîné le développement d'une immunité systémique contre les cellules tumorales non modifiées (Papillon *et al.*, 2001).

Une autre approche est le transfert du gène de molécules co-stimulatrices comme B7-1 ou B7-2 dans les cellules tumorales, en association ou non avec des gènes de cytokines. Ces molécules co-stimulatrices ne sont généralement pas exprimées sur les cellules tumorales (Leclercq *et al.*, 1999).

A la suite du transfert des gènes codant pour l'IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, INF- $\gamma$ , GM-CSF et TNF $\alpha$ , Ces cytokines pourraient permettre d'accroître le recrutement d'effecteurs T cytotoxiques ou auxiliaires capables de reconnaître les antigènes tumoraux, d'augmenter l'expression des molécules du CMH de classe I à la surface des cellules tumorales et de rendre ainsi les cellules tumorales transduites plus vulnérables à une attaque cytotoxique (Papillon *et al.*, 2001 ; Rousseau *et al.*, 2006).

Parmi les autres stratégies étudiées, dans un modèle murin, la transduction *in vivo* de cellules tumorales Fas(+) ou Fas(-) avec le gène FasL a permis d'entraîner, d'une part, l'apoptose des cellules tumorales Fas(+) avec régression tumorale et, d'autre part, une réaction inflammatoire locale ayant un effet antitumoral sur les cellules Fas(-) (Leclercq *et al.*, 1999).



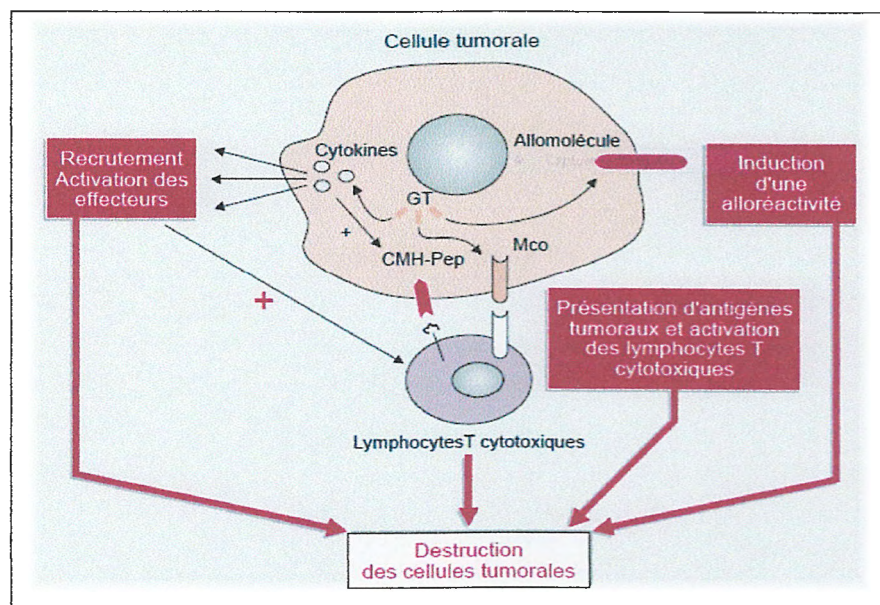


Figure18 : Modification génétique des cellules tumorales (Leclercq *et al.*, 1999).

Ce traitement a induit une nécrose de la tumeur avec une réduction de 40 à 100% de son volume. Une importante réaction inflammatoire locale a été générée avec infiltration de la tumeur par des macrophages et des lymphocytes T (Martinet *et al.*, 1999).

### III-3-3- Les modifications des effecteurs immunitaires

#### III-3-3-1- Les lymphocytes

L'immunothérapie génique adoptive consiste en l'apport d'effecteurs cellulaires antitumoraux génétiquement modifiés, et concerne pour l'essentiel les TIL. Ces TIL ont été transduits par le gène de l'IL- 2 grâce à un vecteur rétrovirus. Dans le but, principalement, d'augmenter leur potentiel antitumorale, le transfert du gène du TNF- $\alpha$  dans des TIL, bien que donnant une faible production de cytokines, a également été utilisé dans un protocole pour des cancers avancés (Leclercq *et al.*, 1999).

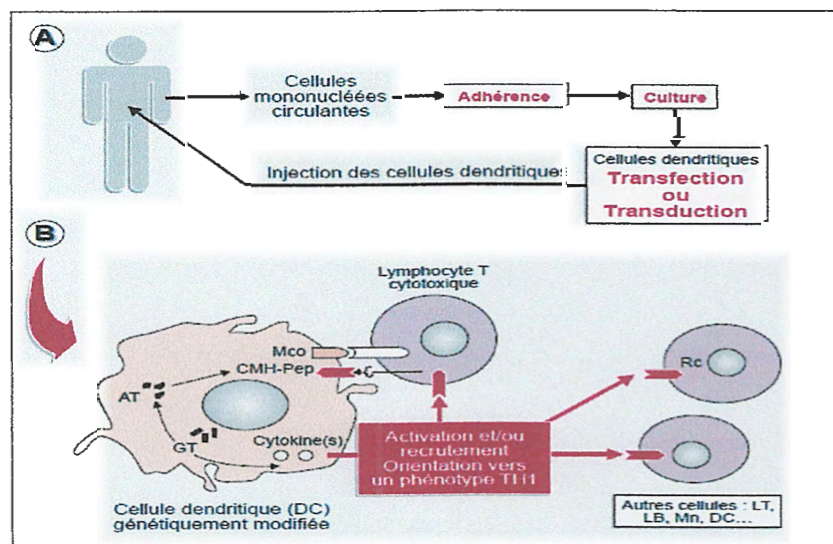
L'utilisation de vecteurs viraux permet, à l'aide du génie génétique, de créer des lymphocytes T reconnaissant la tumeur de façon spécifique. Il est possible d'identifier et de récupérer les séquences d'ADN des domaines variables des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  du TCR de ces TIL (Burmester et Pezzutto, 2005).

Il est en revanche possible de modifier génétiquement la spécificité des lymphocytes au moyen de virus recombinants codant pour des anticorps simple chaîne spécifiques d'un antigène donné (Rousseau *et al.*, 2006).

### III-3-3-2- Les cellules dendritiques

Les cellules dendritiques peuvent être éduquées *ex vivo* et sensibilisées vis-à-vis d'antigènes peptidiques extraits de tumeurs. Elles peuvent également être transfectées par des ARN ou des fragments d'ADN, portés par des vecteurs viraux, afin d'exprimer un antigène tumoral (**Papillon et al., 2001**).

Les cellules dendritiques peuvent également être la cible d'un transfert de gène codant soit pour des cytokines, soit pour des antigènes tumoraux (figure 19) (**Leclercq et al., 1999**).



**Figure 19 :** Utilisation de cellules dendritiques génétiquement modifiées A. Les cellules mononucléées circulantes du patient sont isolées et la fraction adhérente est cultivée pendant 7 jours *in vitro* en présence d'IL-4 (interleukine-4) et de GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) en milieu synthétique. Les cellules dendritiques ainsi produites sont alors transfectées ou transduites avec le (ou les) gène(s) thérapeutique(s) puis injectées au patient. B. L'introduction de gènes d'antigènes tumoraux permettra la présentation de peptides tumoraux par ces cellules qui sont capables de stimuler des lymphocytes T naifs. Le transfert de gènes de cytokines vise à amplifier la réponse induite ou à l'orienter vers un phénotype antitumoral. AT: antigènes tumoraux; GT: gènes transférés; CMH-Pep: molécule de classe I du CMH présentant un peptide tumoral; Mco: molécule co-stimulatrice; Rc: récepteur cytokinique; LT: lymphocyte T; LB: lymphocyte B; Mn: monocyte (**Leclercq et al., 1999**).

### III-3-4- Les oncogènes et les gènes suppresseurs

Le proto-oncogène, alors appelé oncogène. Un moyen de prévenir l'expression des oncogènes est de transfecter les cellules tumorales avec une séquence d'ARN anti-sens dirigée contre l'oncogène incriminé. La séquence ARN anti-sens est complémentaire à l'ARN messager de l'oncogène auquel elle se fixera, formant un double-brin stable d'ARN non-traductible (**Martinet et al., 1999**).

Dans le contexte d'inactivation d'oncogènes, des études précliniques ont montré que le gène E1A (E1A: adenovirus type 5 early region 1) de l'adénovirus de type 5 a une activité

antitumorale associée à la répression transcriptionnelle de l'oncogène HER2/neu qui est surexprimé dans un certain nombre de tumeurs. Suite au traitement, les auteurs ont observé une diminution significative de l'expression du gène HER2/neu dans les tumeurs, accompagnée d'une induction de l'apoptose et d'une réduction de la prolifération des tumeurs (**Bertin et al., 2007**).

Pour compenser un gène suppresseur (inactivé par mutation ou délité), l'apport du gène normal par transfection ou transduction est une autre approche. La compensation d'une mutation d'un gène suppresseur de tumeur par la restauration fonctionnelle de ce même gène est un des axes principaux de thérapie génique. L'efficacité de cette stratégie nécessite la connaissance du statut génétique de la tumeur pour le gène utilisé (**Collinet et al., 2000 ; Ameziane et al., 2006**).





## *Conclusion*

## Conclusion

Depuis la découverte de l'immunité antitumorale, les stratégies en immunothérapie des tumeurs se développent de façon importante. Elles se fondent, pour la plupart, sur l'activation de la réponse lymphocytaire T spécifique. Des stratégies de thérapie cellulaire sont à l'étude actuellement.

Dans tous ces protocoles, des essais préliminaires sont nécessaires. Après les premières découvertes accompagnées d'espoirs parfois excessifs, la phase difficile des essais cliniques est souvent accompagnée d'une certaine désillusion avant que n'apparaissent les premières réponses cliniques objectives. Mais l'espoir est à tempérer. Les scientifiques ignorent encore si leurs nouvelles cellules peuvent effectivement détruire les tumeurs tout en épargnant les tissus sains, afin de développer une thérapie ciblée. Si l'avenir le montre, ils se disent optimistes et pensent pouvoir utiliser un tel traitement dans un futur pas si lointain.

Ils reposent sur le principe de s'attaquer aux cellules tumorales de façon ciblée. Ces nouvelles thérapies se veulent donc à la fois plus spécifiques contre le cancer et moins nocives pour l'organisme. Les thérapies ciblées n'agissent que sur les cellules cancéreuses : les cellules saines sont épargnées et les effets secondaires sont bien moindres.

Le programme Shiva, qui vient d'être lancé en octobre 2012, est le premier essai clinique au monde entièrement basé sur le profil moléculaire de la tumeur, sans tenir compte de l'organe qui est touché. Si une thérapie ciblée est efficace contre un type de cancer, pourquoi ne le serait-elle pas pour d'autres.

Plusieurs agents sont actuellement à l'étude pour le traitement des tumeurs solides. Les chercheurs tentent d'ailleurs de voir si la combinaison de ces nouveaux agents avec des agents de chimiothérapie standard n'entraînerait pas une synergie en ce qui a trait à l'augmentation de l'apoptose des cellules cancéreuses. Beaucoup d'oncologistes croient que les meilleures chances d'améliorer le traitement du cancer reposent sur ces combinaisons d'agents.

*Références  
bibliographiques*



### Références Bibliographiques

- Abastado, J.P., 2003.** L'immunothérapie cellulaire: complexité du système immunitaire et développement industriel. *Bulletin du Cancer.* 90: 94-789.
- Aboody, K.S ; Najbauer, J et Danks, M.K., 2008.** Stem and progenitor cell mediated tumor selective gene therapy. *Gene Ther.* 15: 739-752.
- Ameziane, N ; Bogard, M et Lamoril, J., 2006.** Thérapie génique in: principes de biologie moléculaire en biologie clinique. *Elsevier.* PP: 503-539.
- Angevin, E ; André, F et Zitvogel, L., 2000.** L'immunothérapie cellulaire antitumorale: la percée des cellules dendritiques. *Bulletin du Cancer.* 87: 15- 107.
- Bach, J. F et Chatnoud, L., 2002.** Système immunitaire en action in immunologie. *Médecine Science Flammarion.* 4<sup>e</sup> édition .PP: 214-221.
- Banchereau, J et Steinman, R. M., 1998.** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature.* 392 : 245.
- Bargou, R ; Leo, E ; Zugmaier, G ; Klinger, M ; Goebeler, M ; Knop, S ; Noppeney, R ; Viardot, A ; Hess, G ; Schuler, M ; Einsele, H ; Brandl, C ; Wolf, A ; Kirchinger, P ; Klappers, P ; Schmidt, M ; Riethmuller, G ; Reinhardt, C ; Baeuerle, P.A et Kufer, P., 2008.** Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell engaging antibody. *Science.* 321: 7-974.
- Baron, J.A ; Sandler, R.S ; Haile, R.W., 1998.** Folate intake, alcohol consumption, cigarette smoking, and risk of colorectal adenomas. *J Natl Cancer Inst;* 90:57-62.
- Barry, M et Bleackley, R. C., 2002.** Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. *Nat Rev Immunol.* 2: 9-401.
- Bellet, D et Dangles-Marie, V., 2004.** Immunothérapie des cancers : des mécanismes de défense contre les tumeurs aux applications cliniques. *Noir Quadrichromie.* 45: 34-48.
- Belloq, A ; Antoine, M ; Flahault, A ; Philippe, C ; Crestani, B ; Bernaudin, J. F ; Mayaud, C ; Milleron, B ; Baud, L et Cadranel, J., 1998.** Neutrophil alveolitis in bronchioloalveolar carcinoma : induction by tumor-derived interleukin-8 and relation to clinical outcome. *Am J Pathol.* 152: 83-92.
- Bennett, S. R ; Carbone, F. R ; Karamalis, F ; Flavell, R. A ; Miller, J. F et Heath, W. R., 1998.** Help for cytotoxic-T-cell responses is mediated by CD40 signalling. *Nature.* 393 : 478.
- Berd, D., 2002.** M-Vax: an autologous, hapten-modified vaccine for human cancer. *Expert Opin Biol Ther.* 2 : 42-335.

**Bertin, S ; Neves, S ; Pedroso de Lima, M ; Valérie et Pierrefite, C., 2007.** Applications de l'ADN nu ou associé à des liposomes en thérapie génique anticancéreuse. *Bulletin du Cancer*. 94: 52- 243.

**Bicknell, D. C et Rowan, A., 1994.** Beta 2-microglobulin gene mutations: a study of established colorectal cell lines and fresh tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 91: 5-4751.

**Bishop, J.M., 1991.** Molecular themes in oncogenesis. *Cell*. 64: 48-235.

**Bontkes, H. J et Walboomers, J. M., 1998.** Specific HLA class I down-regulation is an early event in cervical dysplasia associated with clinical progression. *Lancet*. 351: 8-187.

**Borg, C ; Taieb, J ; Terme, M ; Maruyama, K ; Flament, C ; Angevin, E et Zitvogel, L., 2003.** Immunothérapie fondée sur la cellule natural killer : implication des cellules dendritiques. *Bulletin du Cancer*. 90: 699-705.

**Bottino, C et Moretta, L., 2004.** Learning how to discriminate between friends and enemies, a lesson from Natural Killer cells. *Mol Immunol*. 41: 75-569.

**Bouet, F et Catros, V., 2004.** Réponse immunitaire antitumorale : nouvelles perspectives dans le traitement du carcinome à cellules rénales. *Ann Biol Clin*. 62: 257-68.

**Burmester, G. R et Pezzutto, A., 2005.** Immunologie des tumeurs in Atlas de poche d'immunologie. 2<sup>e</sup> édition. *Médecine- Science Flammarion*. PP: 150-156.

**Catros-Quemener, V ; Bouet, F et Genetet, N., 2003.** Immunité anti-tumorale et thérapies cellulaires du cancer. *MEDECINE/SCIENCES*. 19 : 43-53.

**Chapel, H ; Haeney, M ; Misbah, S et Snowden, N., 2004.** Manipulation de système immunitaire in: immunologie clinique. 4<sup>e</sup>édition. *De Boeck*. PP: 146-149.

**Chatenoud, L et Bach, J.F., 2008.** Le système immunitaire en action: Immunité anti tumorale in: immunologie. 5<sup>e</sup> édition. *Médecine-Sciences Flammarion*. PP: 208-243.

**Chaux, P et Favre, N., 1997.** Tumor-infiltrating dendritic cells are defective in their. antigen-presenting function and inducible B7 expression in rats. *Int J Cancer*. 72 : 24- 619.

**Chen, H. L et D. Gabilovich., 1996.** A functionally defective allele of TAP1 results in loss of MHC class I antigen presentation in a human lung cancer. *Nat Genet*. 13: 3-210.

**Chouaib, S et Asselin-Paturel, C., 1997.** The host-tumor immune conflict: from immunosuppression to resistance and destruction. *Immunol Today*. 18: 7-493.

**Clynes, R. A et Towers, T. L., 2000.** Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med*. 6: 6-443.

**Collinet, P ; Lanvin, D ; Vereecque, R ; Quesnel, B et Querleu, D., 2000.** Thérapie génique

et cancer de l'ovaire : exposé des essais cliniques en cours. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 29 : 532.

**Cottrez, F et Groux, H., 2001.** Regulation of TGF- $\beta$  response during T cell activation is modulated by IL-10. *J. Immunol.* 167: 773–778.

**Cromme, F. V et Airey, J., 1994.** Loss of transporter protein, encoded by the TAP-1 gene, is highly correlated with loss of HLA expression in cervical carcinomas. *J Exp Med.* 179: 40-335.

**Delves, P. J ; Martin, S. J ; Burton, D. R et Roitt, I.M., 2008.** L'immunité antitumorale In: Fondements de l'immunologie. 7<sup>e</sup> édition. *De Boeck*. PP : 384-406.

**Diefenbach, A., 2000.** Ligands for the murine NKG2D receptor: expression by tumor cells and activation of NK cells and macrophages. *Nature Immunology.* 1: 26-119.

**Dillman, R.O ; Beutel, L.D et Barth N.M., 2002.** Irradiated cells from autologous tumor cell lines as patient-specific vaccine therapy in 125 patients with metastatic cancer: induction of delayed-type hypersensitivity to autologous tumor is associated with improved survival. *Cancer Biother Radiopharm.* 17: 51-66.

**Dougan, M et Dranoff, G., 2009.** Immune therapy for cancer. *Annu Rev Immunol.* 27: 83-117.

**D'Urso, C. M et Wang, Z. G., 1991.** Lack of HLA class I antigen expression by cultured melanoma cells FO-1 due to a defect in B2m gene expression. *J Clin Invest.* 87: 92-284.

**El Hage, F ; Abouzahr-Rifai, S et Meslin, F., 2008.** Réponse immune et cancer. *Bull Cancer.* 95: 57-67.

**Escudier, B et Dorval, T., 2005.** Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous dendritic cell (DC) derived-exosomes: results of the first phase I clinical trial. *J Transl Med.* 3: 10.

**Etienne, J ; Clauser, E ; Housset, C et Roingeard, P., 2006.** Biochimie génétique, Biologie moléculaire. 9<sup>e</sup> édition. *Elsevier Masson*. PP : 239-240.

**Eymard, J.C ; Lopez, M et Cattan, A., 1996.** Phase I/II trial of autologous activated macrophages in advanced colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 11: 11-1905.

**Eymard, J.C et Bernard, J., 2003.** Thérapie cellulaire et cancer de la prostate. *Bull Cancer.* 90: 43-734.

**Ferlazzo, G et Thomas, D., 2004.** The abundant NK cells in human secondary lymphoid tissues require activation to express killer cell Ig-like receptors and become cytolytic. *J Immunol.* 172: 62-1455.

**Fransen, L et Heyden, V.J., 1986.** Recombinant tumor necrosis factor: its effect and its synergism with interferon-gamma on a variety of normal and transformed human cell lines. *Eur J Cancer Clin Oncol.* 22: 26-419.



- Gattoni-Celli, S et Kirsch, K., 1992.** Beta 2-microglobulin gene is mutated in a human colon cancer cell line (HCT) deficient in the expression of HLA class I antigens on the cell surface. *Cancer Res.* 52 : 4-1201.
- Giovannucci, E., 2001.** An updated review of the epidemiological evidence that cigarette smoking increases risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 10:31-725.
- Glennie, M. J et Johnson, P. W., 2000.** Clinical trials of antibody therapy. *Immunol Today.* 21: 10- 403.
- Gorelik, L et Constant, S., 2002.** Mechanism of transforming growth factor betainduced inhibition of T help type 1 differentiation. *J Exp Med.* 195: 505-1499.
- Gorelik, L et Fields, P. E., 2000.** Cutting edge: TGF-beta inhibits Th type 2 development through inhibition of GATA-3 expression. *J Immunol.* 165: 7-4773.
- Grégoire, M et Ebstein, F., 2007.** L'immunothérapie dans le mésothéliome malin : perspectives thérapeutiques. *Bulletin du Cancer.* 94: 23-31.
- Grill, J ; Georger, B ; Lamfers, M ; Dirven, C ; Beusechem, V. V ; Gerritsen, W et Vassal, G., 2003.** Les adénovirus réplicatifs conditionnels : un second souffle pour la thérapie génique du cancer. *Bulletin du Cancer.* 90: 48-1039.
- Hamada, H ; Kobune, M ; Nakamura, K ; Kawano, Y ; Kato, K ; Honmou, O ; Houkin, K ; Matsunaga, T et Niitsu, Y., 2005.** Mesenchymal stem cells (MSC) as therapeutic cytoreagents for gene therapy. *Cancer Sci.* 96: 149-156.
- Hayes, J.D et Pulford, D.J., 1995.** The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 30 : 445-600.
- Hœrni, B., 2001.** Cancérologie générale in : cancérologie et hématologie. *Masson.* PP : 10-23.
- Hu, Y.L ; Fu, Y.H ; Tabata, Y et Gao, J.Q., 2010.** Mesenchymal stem cells: a promising targeted-delivery vehicle in cancer gene therapy. *J Control Release.* 147: 154-162.
- Jakó bisiak, M ; Lasek, W et Gol, J., 2003.** Natural mechanisms protecting against cancer. *Immunology Letters.* 90: 103-122.
- Janeway, C., 2001.** Immunobiology: the immune system in health and disease. *London, New York, NY, US, Garland Pub.*
- Kagi, D et Vignaux, F., 1994.** Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science.* 265: 30-528.
- Kawano, T et Cui, J., 1998.** Natural killer-like nonspecific tumor cell lysis mediated by specific ligand-activated Valpha14 NKT cells. *Proc Natl Acad Sci, U SA.* 95: 3-5690.

- Khan, N ; Afaq, F et Mukhtar, H., 2007.** Apoptosis by dietary factors: the suicide solution for delaying cancer growth. *Carcinogenesis*. 28: 9-233.
- Kindt, T. J ; Goldsby, R. A et Osborne, B.A., 2008.** Cancer et système immunitaire in : Immunologie le cours de janis kuby avec questions de révision. 6<sup>e</sup> édition. *Dunod*. PP : 535-556.
- Kunzmann, V ; Kimmel, B ; Herrmann, T ; Einsele, H et Wilhelm, M., 2009.** Inhibition of phosphoantigen-mediated gammadelta T-cell proliferation by CD4+ CD25+ FoxP3+ regulatory T cells. *Immunology. Feb.* 126: 67-256.
- Lapidot, T. A., 1994.** cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. *Nature*. 367: 8- 645.
- Leclercq, V ; Hamdane, M ; Bruyns, C ; Faid, L ; Gangji, D et Velu, T., 1999.** Immunothérapie génique du cancer: bilan et perspectives. *médecine/sciences*.15 : 44-635.
- Lesimple, T ; Moisan, A et Guillé, F., 2000.** Treatment of metastatic renal cell carcinoma with activated autologous macrophages and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J. Immunother.* 23: 9-275.
- Lethe, B ; Bruggen, V .D ; Brasseur, P. F et T. Boon., 1997.** MAGE-1 expression threshold for the lysis of melanoma cell lines by a specific cytotoxic T lymphocyte. *Melanoma Res*, S83.
- Letonturier, P., 2007.** La résistance des tumeurs au système immunitaire in: Immunologie générale. 8<sup>e</sup> édition. *Masson*. PP: 107-111.
- Lieberman, J., 2003.** The ABCs of granule-mediated cytotoxicity: new weapons in the arsenal. *Nat Rev Immunol.* 3: 70-361.
- Loebinger, M.R et Janes, S.M., 2010.** Stem cells as vectors for antitumour therapy. *Thorax*. 65 : 362-369.
- López-Larrea, C., 2008.** The NKG2D receptor: sensing stressed cells. *Trends in molecular medicine*. 14: 89-179.
- LU, F.C., 1992.** Cancérogénèse in: Toxicologie données générales procédures d'évaluation organes cibles évaluation du risque. *Masson*. PP : 89-111.
- Lydrard, P ; Whelan, A et Faner, M., 2002.** Immunologie des tumeurs in: l'essentiel en immunologie. *BRTI EDITION*. PP: 225-244.
- Mackensen, A ; Meidenbauer, N ; Vogl, S ; Laumer, M ; Berger, J et Andreesen, R., 2006.** Phase I study of adoptive T-cell therapy using antigen-specific CD8+ T cells for the treatment of patients with metastatic melanoma. *J.Clin Oncol.* 24: 5060-5069.
- Mackey, M. F et Gunn, J. R., 1997.** Protective immunity induced by tumor vaccines requires interaction between CD40 and its ligand, CD154. *Cancer Res.* 57: 74-2569.

- Mackey, M. F et Gunn, J. R., 1998.** Dendritic cells require maturation via CD40 to generate protective antitumor immunity. *J. Immunol.* 161: 8-2094.
- Manson, M.M., 2003.** Cancer prevention - the potential for diet to modulate molecular signalling. *Trends Mol Med.* 9 : 8-11.
- Martinet, O ; Reis, E. D et Gillet, M., 1999.** Thérapie génique et métastases hépatiques. *Schweiz Med Wochenschr.* 129: 95-1187.
- Tubiana, N. M., 2002.** Prévention et dépistage. *Masson.* PP 89-132.
- Matuskova, M ; Hlubinova, K ; Pastorakova, A ; Hunakova, L ; Altanerova, V ; Altaner, C et Kucerova, L., 2009.** HSV-tk expressing mesenchymal stem cells exert bystander effect on human glioblastoma cells. *Cancer Lett.* 290 : 58-67.
- Mazouz, N ; Detournay, O et Buelens, C., 2005.** Immunostimulatory properties of human dendritic cells generated using IFN-beta associated either with IL-3 or GM-CSF. *Cancer Immunol Immunother.* 54:1010-1017.
- Michielin, O ; Leyvraz, S ; Laurent, J ; Cerottini, J.P ; Guggisberg, D ; Rufer, N ; Speiser, D et Romero, P., 2008.** Nouveautés dans l'immunothérapie du cancer. *Rev Med Suisse.* 4: 1248-1251.
- Moore, N.G ; Johannig, G. L ; Wang-Johanning, F et Chang, P. L., 2001.** Omega-3 fatty acids decrease protein kinase expression in human breast cancer cells- Breast cancer Res Treat. 67: 279-283.
- Mosmann, T. R et Coffman, R.L., 1989.** TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 7: 73-145.
- Nakamizo, A ; Marini, F ; Amano, T ; Khan, A ; Studeny, M ; Gumin, J ; Chen, J ; Hentschel, S ; Vecil, G et Dembinski, J. 2005.** Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells in the treatment of gliomas. *Cancer Res.* 65 : 3307-3318.
- Nakamura, K ; Ito, Y ; Kawano, Y ; Kurozumi, K ; Kobune, M ; Tsuda, H ; Bizen, A ; Honmou, O ; Niitsu, Y et Hamada, H. 2004.** Antitumor effect of genetically engineered mesenchymal stem cells in a rat glioma model. *Gene Ther.* 11 : 1155-1164.
- Norat, T et Riboli, E., 2000.** Epidemiological evidence of the protective effect of fruits and vegetables on cancer risk. *Am J Clin Nutr.* Submitted for publication.
- Ochsenbein, A. F., 2008.** Anticorps monoclonaux comme substances thérapeutiques. *Forum Med Suisse* 8: 140-143.
- Ohm, J. E et Carbone, D. P., 2001.** VEGF as a mediator of tumor-associated immunodeficiency. *Immunol Res.* 23: 72-263.



**Olivier, M ; Leyvraz, S ; Laurent, J ; Cerottini, J.P ; Guggisberg, D ; Rufer, N ; Speiser, D et Romero, P., 2008.** Nouveautés dans l'immunothérapie du cancer. *Rev Med Suisse*. 4: 1248-1251.

**Ostrand-Rosenberg, S., 2008.,** Immune surveillance: a balance between protumor and antitumor immunity. *Current Opinion in Genetics & Development*. 18: 11.

**Oyama, T et S. Ran., 1998.** Vascular endothelial growth factor affects dendritic cell maturation through the inhibition of nuclear factor-kappa B activation in hemopoietic progenitor cells. *J. Immunol*. 160: 32-1224.

**Palucka, K ; Ueno, H ; Fay, J et Banchereau, J., 2009.** Harnessing dendritic cells to generate cancer vaccines. *Ann N Y Acad Sci*. 1174: 88-98.

**Papillon, E ; Fournet, J et Zarski, J.P., 2001.** Immunothérapie anti-tumorale et tube digestif : immunothérapie spécifique par cellules dendritiques et intérêt potentiel des protéines de stress. *Masson*. 25: 380-390.

**Parham, P., 2003.** Le cancer et ses interactions avec la système immunitaire in: le système immunitaire. *De Boeck*. PP: 358-363.

**Pasternak, J. J., 2003.** Génétique moléculaire du cancer In: Génétique moléculaire humain. *De Boeck*. PP : 377-395.

**Patarad, J.J ; Bouet, F ; Rioux-leclercq, N ; Lobel, B ; Catros-quemener, V et Guillé, F., 2002.** Mécanisme de tolérance immunitaire Locale dans les cancers du rein. *Prog Urol*. 12 : 205-212.

**Paul, S ; Calmels, B et Régulier, E., 2002.** Immunité antitumorale et tolérance immunitaire. *Annales de Biologie Clinique*. 60: 52-143.

**Phillips, J.H et Lanier, L.L., 1986.** Dissection of the lymphokine-activated killer phenomenon: relative contribution of peripheral blood natural killer cells and T lymphocytes to cytolysis. *J Exp Med*. 164: 25-814.

**Pommey, S et Galipeau, J., 2006.** L'utilisation des cellules souches mésenchymateuses en oncologie et thérapie cellulaire. *Bulletin du Cancer*. 9: 7-901.

**Rafter, J ; Govers, M ; Martel, P ; Pannemans, D ; Pool-Zobel, B et Rechkemmer, G., 2004.** PASSCLAIM-diet-related cancer. *Eur J Nutr*. 43: 47- 84.

**Raulet, D.H., 2003.** Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands. *Nat Rev Immunol*. 3: 90- 781.

**Restifo, N. P et Esquivel, F., 1993.** Identification of human cancers deficient in antigen processing. *J Exp Med*. 177: 72-265.

**Revillard, J.P., 2001.** Immunologie des tumeurs in: Immunologie. *De Boeck*. Pp: 319-329.

**Ridge, J. P et Di Rosa, F., 1998.** A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4+ T-helper and a T-killer cell. *Nature*. 393: 8-474.

**Rodríguez, P.C et Ochoa, A.C., 2008.** Arginine regulation by myeloid derived suppressor cells and tolerance in cancer: mechanisms and therapeutic perspectives. *Immunological reviews*. 222: 91-180.

**Roitt, I ; Brostoff, J et Male, D., 2002.** Immunologie des tumeurs in: immunologie. 3<sup>e</sup> édition. *De Boeck et Larcier*. PP: 289-301.

**Roitt, I. M ; Brostoff, J et Malle, D. K., 1994.** Immunologie de tumeurs in: immunologie. 3<sup>e</sup> édition. *De Boeck*. PP : 1-12.

**Rosenstein, M ; Yron, I et Kaufman, Y., 1984.** Lymphokine-activated killer cells: lysis syngeneic natural killer-resistant murine tumor cells by lymphocytes cultured in interleukin-2. *Cancer Res*. 44: 53-1946.

**Rousseau, R ; Combaret, V ; Yvon, É ; Schell, M ; Philip, I ; Puisieux, A ; Frappaz, D ; Philip, T et Bergeron, C., 2006.** Immunothérapie des neuroblastomes de mauvais pronostic chez l'enfant : depuis les concepts fondamentaux jusqu'aux essais cliniques de phase I-II. *Bulletin du Cancer*. 93: 61-153.

**Sad, S et Mosmann, T.R., 1994.** Single IL-2-secreting precursor CD4 T cell can develop into either Th1 or Th2 cytokine secretion phenotype. *J. Immunol*. 153: 22-3514.

**Saint, F., 2008.** Immunothérapie par Bacille de Calmette-Guérin : quel protocole. *Elsevier Masson*. 18: 99-104.

**Santarius, T., 2010.** A census of amplified and overexpressed human cancer genes. *Cancer*. 10: 59-64.

**Schoenberger, S. P ; Toes, R. E ; van der Voort, E. I ; Offringa, R et Melief, C. J., 1998.** T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions [see comments]. *Nature*. 393 : 480.

**Seliger, B et T. Cabrera., 2002.** HLA class I antigen abnormalities and immune escape by malignant cells. *Semin Cancer Biol*. 12: 3-13.

**Shankaran, V. S ; Ikeda, H. A ; Bruce, T ; White, J. M ; Swanson, P. E ; Old, L. J et Schreiber, R. D., 2001.** IFN $\gamma$  and lymphocytes prevent primary tumour development and shape the tumor immunogenicity. *Nature*. 410 : 1107.

**Sharma, S ; Stolina, M et Lin, Y. T., 1999.** cell-derived IL-10 promotes lung cancer growth by suppressing both T cell and APC function. *J. Immunol*. 163: 5020.

**Skipper, H.E et Thomson, J.R., 1995.** Effects of a series of tumor-inhibiting agents and related compounds on L1210 leukemia and drug-resistant lines thereof. *Cancer research Suppl*. 3 : 6-44.

- Smyth, M. J et Godfrey, D. I., 2000.** NKT cells and tumor immunity - a double-edged sword. *Nature Immunology*. P: 459.
- Smyth, M. J ; Godfrey, D. I et Trapani, J. A., 2001.** A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nature immunology*. 2 : 293.
- Smyth, M. J., 2002.** New aspects of natural-killer-cell surveillance and therapy of cancer. *Nat Rev cancer*. 2 : 61-850.
- Spada, F. M ; Grant, E. P et Peters, P. J. 2000.** Self-recognition of CD1 by gamma/delta T cells: Implications for innate immunity. *J Exp Med*. 191: 937.
- Sugimura, T., 2000.** Nutrition and dietary carcinogens. *Carcinogenesis*. 21:387-95.
- Takada, K et Hayakawa, Y., 2000.** Relative contribution of NK and NKT cells to the anti-metastatic activities of IL-12. *Int Immunol*. 12: 14-909.
- Tjandra, J.J et Chan, M.K.Y., 2007.** Follow-up after curative resection of colorectal cancer: a meta-analysis. *Diseases of the colon and rectum*. 50 : 99-1783.
- Torres, M. J et Ruiz-Cabello, F., 1996.** Loss of an HLA haplotype in pancreas cancer tissue and its corresponding tumor derived cell line. *Tissue Antigens*. 47 : 81-372.
- Trosko, J. E et Ruch, R. J., 1998.** Cell-cell communication in carcinogenesis. *Front Biosci*. 3: 36-208.
- Viala, A., 2005.** Cancérogénèse chimique In : toxicologie. *Lavoisier*. Pp 47-53
- Vonderheide, R. H et Hahn, W. C., 1999.** The telomerase catalytic subunit is a widely expressed tumor-associated antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity*. 10: 9-673.
- Wallack, M.K ; Scoggin, S.D et Sivanandham, M., 1992.** Active specific immunotherapy with vaccinia melanoma oncolysate. *Mt Sinai J Med*. 59: 33-227.
- Wang, R. F., 2001.** The role of MHC class II-restricted tumor antigens and CD4+ T cells in antitumor immunity. *Trends Immunol*. 22: 7-269.
- Wang, H ; Cao, F ; De, A ; Cao, Y ; Contag, C ; Gambhir, S.S ; Wu, J.C et Chen, X., 2009.** Trafficking mesenchymal stem cell engraftment and differentiation in tumor-bearing mice by bioluminescence imaging. *Stem Cells*. 27: 1548-1558.
- Whiteside, T. L et Herberman, R. B., 1995.** The role of natural killer cells in immune surveillance of cancer. *Curr Opin Immunol*. PP: 7- 704.
- Williamson, B. D et Carswell, E. A., 1983.** Human tumor necrosis factor produced by human B-cell lines: synergistic cytotoxic interaction with human interferon. *Proc Natl Acad Sci U SA*. 80: 401-5397.



- Wislez, M ; Rabbe, N ; Marchal, J ; Milleron, B ; Crestani, B ; Mayaud, C ; Antoine, M ; Soler, P et Cadranet, J., 2003.** Hepatocyte growth factor production by neutrophils infiltrating bronchioloalveolar subtype pulmonary adenocarcinoma: role in tumor progression and death. *Cancer Res.* 63: 12-1405.
- Wolfel, T. M ; Hauer, J ; Schneider, M ; Wolfel, E. K ; Deplaen, T ; Hankeln, K.H ; Zumbuschenfelde, M et Beach, D., 1995.** Ap16(INK4a)-insensitive CDK4 mutant targeted by cytolytic T lymphocytes in a human melanoma. *Science.* PP: 269-1281.
- Wolfers, J et Lozier, A., 2001.** Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat Med.* 7: 297-303.
- Workman, C. J et Szymczak-Workman, A. L., 2009.** The development and function of regulatory T cells. *Cell Mol Life Sci.* 66: 22-2603.
- Yue, F.Y., 1997.** Interleukin-10 is a growth factor for human melanoma cells and down-regulates HLA class-I, HLA class-II and ICAM-1 molecules. *Int J Cancer.* 71: 7-630.
- Zitvogel, L et Faure, F., 1999.** L'immunité antitumorale : des concepts à l'immunothérapie active spécifique. *médecine/sciences.* 15: 939-49.
- Zitvogel, L et Tesniere, A., 2006.** Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol.* 6 : 27-715.
- Zitvogel, L ; Tesniere, A ; Apetoh, L ; Ghiringhelli, F et Kroemer, G., 2008.** Immunological aspects of anticancer chemotherapy. *Bull Acad Natl Med.* 192 :1469-1487.

Présenté par : Bouhekrit feriel Boutafaha nadjah	Encadreur : Rouibah hassiba Examinatrice : Bensam Moufida	La date de la soutenance 19-06-2013
<b>Thème</b> <b>L'immunité antitumorales et la thérapie cellulaire du cancer</b>		
<b>Résumé</b> Les cellules tumorales présentent des antigènes tumoraux capables, d'être reconnus par les cellules effectrices du système immunitaire, qui peuvent alors, dans certaines conditions, les éliminer. Cependant au cours de l'histoire naturelle du développement tumorale, les cellules cancéreuses peuvent échapper à l'immunité antitumorale, dans ce cas, elle se révèle inefficace. L'immunothérapie implique l'utilisation des effecteurs immunitaires contre la progression des tumeurs. Il s'agit de passer d'un état de tolérance immunitaire à une situation de rejet. La thérapie cellulaire vise à soigner les patients par injection de cellules appropriées, en stimulant le système immunitaire pour qu'il soit plus efficace.  <b>Mots clés :</b> antigènes tumoraux, cellules tumorales, immunothérapie, thérapie cellulaire.		
<b>Summary:</b> Tumor cells express tumor antigens capable of being recognized by the effector cells of the immune system, which can then, in certain condition, eliminate them. However, during the natural history of tumor development, cancer cells can escape from anti-tumor immunity, in this case, they are ineffective. Immunotherapy the use of immune effectors against tumor progression. It passes from a state of immune tolerance to a situation of rejection. Cell therapy aims to treat by injection of patients appropriate cells, that stimulate the immune system to be more efficient.  <b>Keywords:</b> tumor antigens, tumor cells, immunotherapy, cell therapy.		
<b>ملخص:</b> الخلايا السرطانية تعرض مستضدات الأورام التي يمكن التعرف عليها من قبل خلايا الجهاز المناعي، والتي يمكن حينئذ القضاء عليها، في ظروف معينة. مع ذلك، خلال التاريخ الطبيعي لتطور الورم، يمكن للخلايا السرطانية أن تهرب من المناعة المضادة للورم فتصبح في هذه الحالة غير فعالة. العلاج المناعي ينطوي على استخدام المستجيبات المناعية ضد تطور الورم. فإنه ينتقل من حالة التسامح المناعي إلى حالة الرفض. يهدف العلاج الخلوي لعلاج المرضى عن طريق الحقن بالخلايا المناسبة، من أجل تحفيز الجهاز المناعي ليصبح أكثر فعالية.  الكلمات المفتاحية : مستضدات الأورام، الخلايا الورمية ، العلاج المناعي ، العلاج الخلوي.		