



La cancérologie aujourd'hui

Immunothérapie des cancers au troisième millénaire

Coordonné par **L. Zitvogel, D. Hannani et F. Martin**

Immunothérapie des cancers au troisième millénaire

Coordonné par L. ZITVOGEL,
D. HANNANI et F. MARTIN

La publication de ce contenu est effectuée sous la seule responsabilité des auteurs du livre.

Les données présentées sont susceptibles de ne pas être en accord avec les AMMs validées en France des produits cités et ne doivent pas être mises en pratique le cas échéant.

Imprimé en France

ISBN : 978-2-7598-1110-6

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays. La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective », et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du code pénal.

© EDP Sciences 2014

PRÉFACE

Par Laurence Zitvogel
et Jacques Rouëssé

L'immunothérapie des cancers n'était qu'un concept théorique sans substance clinique pratique jusqu'à récemment, 2011, date à laquelle trois événements majeurs se sont précipités. Tout d'abord, la Food and Drug Administration (FDA) approuve le premier vaccin dans le traitement des cancers prostatiques métastatiques, indolents et hormono-résistants. Ce vaccin est personnalisé en ce sens qu'il réinjecte les propres cellules dendritiques du patient en association avec une protéine de fusion (cytokine + antigène tumoral prostatique) et ses lymphocytes activés. Parallèlement, les travaux pionniers de James Allison, MSKCC (USA) montrant le rétrocontrôle majeur des lymphocytes T par un récepteur inhibiteur puissant, le CTLA4, aboutissent à une démonstration d'efficacité dans les mélanomes métastatiques dont 15-20 % finissent par être contrôlés voire guéris après 3 à 7 ans de recul. La FDA suivie par l'Agence médicale européenne approuve donc l'indication de cet anticorps monoclonal

bloquant le CTLA4 dans le mélanome avancé. En octobre 2011, le prix Nobel de Physiologie et Médecine est décerné à trois scientifiques ayant découvert le rôle et les ligands des récepteurs Toll-Like (TLR) ainsi que les cellules dendritiques. En effet, trois ligands de TLR sont actuellement indiqués comme adjuvants de vaccination et/ou traitements de cancers cutanéomuqueux et vésicaux.

Dans ce domaine le maître à penser de ces dernières décennies, Steve Rosenberg, a probablement été le pionnier le plus contesté mais aussi le plus protagoniste et provocateur de cette ère nouvelle de l'immunothérapie. En effet, la « Surgery Branch » du National Cancer Institute, Bethesda, a lancé le pavé dans la marre consistant à apporter la preuve de principe de l'efficacité de la réinjection passive de lymphocytes activés, guérissant un grand nombre de mélanomes métastatiques désespérés. Les travaux de Carl June et d'autres « ingénieurs » du récepteur T à l'antigène ont depuis démontré l'efficacité

spectaculaire de lymphocytes T armés par un anticorps reconnaissant un antigène dominant des lymphocytes B, guérissant ainsi des leucémies lymphoblastiques et lymphoïdes chroniques.

Rappelons que l'immunothérapie antitumorale vise à générer une réponse lymphocytaire effectrice et mémoire contre certains antigènes dominants du cancer du patient. Pour être efficace, cette immunité doit comporter l'activation spécifique de lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ et probablement la stimulation de l'immunité innée. Certaines tumeurs sont intrinsèquement « immunogéniques » et contiennent déjà une immunité puissante antitumorale associée au pronostic favorable du patient. Dans ces cas précis, la réactivation de lymphocytes préexistants est probablement suffisante pour progressivement endiguer la croissance tumorale. Bien que les données sur un rôle des lymphocytes B et d'une réponse humorale soient présentes (surtout au niveau des tissus tumoraux), il n'y a pour l'instant ni consensus ni démonstration de cause-effet sur l'action antitumorale de certains anticorps neutralisants générés à partir d'un vaccin antitumoral.

L'immunothérapie des cancers a essuyé un bon nombre d'échecs sur les cinquante dernières années, en partie dus au fait que (i) l'immunosuppression « tolérissante » exercée par la tumeur sur la majorité des acteurs du système immunitaire actifs n'était pas prise compte, (ii) les succès de la greffe allogénique n'avaient à tort pas été attribués au phénomène de rejet du greffon contre hôte (tumoral), (iii) les succès des anticorps monoclonaux à fraction Fc douée d'action cytotoxique n'étaient pas interprétés comme des phénomènes immunitaires (alors qu'ils dépendent des macrophages et/ou NK), (iv) la réalisation que les effets de la chimiothérapie et

radiothérapie conventionnelles pouvaient, dans certains cas, passer par l'activation efficace du système immunitaire, (v) enfin, le lobbying des industries pharmaceutiques s'est attaché à défendre la thérapie ciblée personnalisée.

Le monde de la biotechnologie et de l'industrie pharmaceutique incorpore maintenant ces notions non seulement dans l'arsenal thérapeutique du mélanome métastatique mais aussi dans d'autres tumeurs solides (comme le cancer bronchique) et hématopoïétiques. De nombreux anticorps monoclonaux dirigés contre des récepteurs agonistes ou bloquant des récepteurs antagonistes sont en phase de développement clinique. De nouveaux journaux scientifiques ont été récemment créés pour permettre les publications rapides et ciblées des avancées dans le domaine. Cependant, des défis importants sont encore devant nous. Les vaccins antitumoraux demandent une mise au point certaine (définition des antigènes les plus pertinents au plan immunologique et du rejet tumoral, association d'adjuvants, formulations antigéniques). Les effets secondaires immuno-inflammatoires ou autoimmuns pourraient limiter les indications. Le rationnel des meilleures combinaisons cliniques associant l'immunothérapie est parfois difficile à défendre ou anticiper en l'absence d'arguments précliniques solides. La toxicité « économique » est à prévoir en ce sens que ces anticorps monoclonaux ont un coût important en l'absence de facteurs prédicteurs de réponse.

Le succès de l'immunothérapie de phase III a été conditionné par le changement des pratiques cliniques d'évaluation, avec notamment l'intégration des « immune response criteria » prenant en compte la cinétique lente de la montée d'une

activation immunitaire et de l'importance de l'équilibre hôte-tumeur (stabilité des lésions) dans le mode d'action de ces nouveaux médicaments.

La discipline de l'immunologie antitumorale n'est donc enseignée que depuis peu de temps dans les universités francophones. La génération des praticiens actuels n'a donc pas été exposée à ces notions jugées complexes au premier abord. Cet ouvrage est le fruit d'un travail passionné, écrit par des experts français en immunologie antitumorale et immunothérapie, destiné à tous les cliniciens, chercheurs et à tous les patients désireux d'en savoir plus sur notre système

immunitaire face à une tumeur. C'est le premier ouvrage de ce type, suscité dans son élaboration par une réflexion au sein de la commission « cancérologie » de l'Académie Nationale de Médecine. Il abordera les principales thématiques de la discipline, offrira de nombreux rappels et redondances au fil des chapitres pour faciliter la compréhension du lecteur n'absorbant qu'un chapitre d'intérêt et illustrera les points majeurs par certaines figures didactiques. Nul doute qu'il convaincra les plus incrédules au bénéfice attendu des associations de thérapies conventionnelles et ciblées aux immunothérapies. Cet ouvrage annonce « que l'Immuno-Oncologie est née ! ».

Vj ku'r ci g'kpvgpvkqpcmf 'hghv'dncpm

SOMMAIRE

PRÉFACE par Laurence Zitvogel et Jacques Rouëssé	III
1. Les grands principes de l'immunosurveillance antitumorale François Martin	1
2. Les grandes stratégies d'immunothérapie antitumorale Lionel Apetoh	19
3. Rôle pronostique des lymphocytes T dans les cancers Franck Pagès, Guy Zeitoun, Wolf Herman Fridman, Jérôme Galon	37
4. Rôle pronostique des lymphocytes NK dans les cancers Isabelle Cremer, Catherine Sautès-Fridman	53
5. Vaccination antitumorale par peptides/protéines Christine Sedlik, Sebastian Amigorena, Olivier Lantz	69
6. Vaccination par cellules dendritiques Caroline Aspod, Joël Plumas, Laurence Chaperot.....	85
7. Inhibitions des lymphocytes T régulateurs et immunothérapie antitumorale François Ghiringhelli, Christophe Caux	109
8. Blocage des rétrocontrôles inhibiteurs Stéphane Champiat, Judith Michels, Alexander Eggermont.....	123
9. Lymphopénie, divpénie et IL-7 Christine Ménétrier-Caux, Jean-Yves Blay.....	149
10. Thérapie allogénique et cellules Natural Killer D. Blaise, F. Romagné, S. Ugolini, C. Chabannon, D. Olive, E. Vivier	177
11. Utilisation des cellules cytotoxiques naturelles en thérapie cellulaire Romain Loyon, Olivier Adotevi, Yann Godet, Christophe Borg	189

12. Thérapie cellulaire T adoptive	
N. Labarriere	209
13. Potentialisation des anticorps ciblant la tumeur par des anticorps stimulant le système immunitaire	
Roch Houot, Aurélien Marabelle	221
14. Mobilisation des effecteurs de l'immunité par les anticorps anticancéreux nus	
Jérémy Pottier, Gilles Thibault, Hervé Watier	233
15. Thérapies conventionnelles cytotoxiques immunogènes	
Dalil Hannani, Laurence Zitvogel	247
16. Immunogénicité des inhibiteurs de tyrosines kinases : exemple de l'imatinib dans le GIST	
Sylvie Rusakiewicz, Aurélie Perier, Axel Lecesne, Laurence Zitvogel.....	261
17. Virus oncolytiques dans le traitement du cancer	
Johann Follope, Laetitia Fend, Xavier Prévile, Philippe Erbs, Jean-Marc Limacher.....	277
18. Techniques d'immunomonitoring en oncologie	
Nathalie Chaput	295
19. Immunothérapies des cancers du rein	
Aurélie Perier, Anne Caignard	305
20. Place de l'immunothérapie dans le cancer de la prostate	
Dalil Hannani, Laurence Zitvogel, Karim Fizazi	325
21. Immunothérapie dans le cancer bronchique	
Magali Terme, Hélène Roussel, Éléonore De Guillebon, Stéphane Oudard, Elizabeth Fabre, Éric Tartour.....	337
22. Immunothérapie dans le cancer du sein	
Sylvain Ladoire	355
23. Immunothérapie en oncologie pédiatrique : l'exemple du neuroblastome et des sarcomes osseux	
Michaela Semeraro, Véronique Minard-Colin	373
24. Personnalisation de l'immunothérapie du cancer ? Déjà une réalité en 2014	
Nathalie Malherbe, Sophie Cotteret, Laurence Zitvogel	395
GLOSSAIRE.....	411

1 LES GRANDS PRINCIPES DE L'IMMUNOSURVEILLANCE ANTITUMORALE

François Martin

Professeur émérite à l'université de Bourgogne, INSERM UMR866, Dijon, France.

Les données expérimentales obtenues chez la souris et les observations effectuées chez l'Homme montrent que le système immunitaire inné et adaptatif est capable d'exercer une surveillance du processus tumoral. Cette surveillance implique la reconnaissance d'antigènes tumoraux par les cellules de l'immunité adaptative, notamment les lymphocytes T, mais aussi l'activation par des signaux danger des cellules de l'immunité innée, cellules dendritiques, cellules NK et macrophages. Cette immunosurveillance peut éradiquer complètement des tumeurs naissantes ou les maintenir de façon prolongée à l'état de tumeurs dormantes non évolutives. Les tumeurs peuvent cependant échapper à

cette surveillance, notamment à l'issue d'un processus de sélection darwinienne qui élimine les cellules cancéreuses les plus immunogènes ou les plus sensibles à l'immunosurveillance pour « éditer » des tumeurs constituées préférentiellement de cellules peu immunogènes et/ou plus résistantes. Ce sont donc à ces tumeurs éditées qu'est confronté le médecin lorsqu'il tente de recourir à l'immunothérapie pour éliminer ces cancers. Il sait aujourd'hui qu'il peut aussi compter sur l'effet immunogène des traitements conventionnels du cancer, chimiothérapie, radiothérapie et exérèse chirurgicale pour mobiliser les fonctions antitumorales du système immunitaire et commencer le travail.

SOMMAIRE

1. Le système immunitaire est-il capable de reconnaître et de détruire les cellules cancéreuses ? L'immunosurveillance existe-t-elle ?	2
2. L'immunosurveillance existe bien, au moins chez la souris	3
3. L'immunosurveillance des cancers s'exerce aussi chez l'Homme	4
4. Les mécanismes de l'immunosurveillance des cancers. Immunité adaptative ou immunité innée ?	6
5. Les limites de l'immunosurveillance : l'édition immunitaire des cellules cancéreuses. Hétérogénéité des cancers et sélection darwinienne	8
6. Immunosurveillance et traitement des cancers	12
7. Conclusion	14
8. Références bibliographiques	15

1 LE SYSTÈME IMMUNITAIRE EST-IL CAPABLE DE RECONNAÎTRE ET DE DÉTRUIRE LES CELLULES CANCÉREUSES ? L'IMMUNOSURVEILLANCE EXISTE-T-ELLE ?

La capacité du système immunitaire à reconnaître et à éradiquer les cellules tumorales est une hypothèse évoquée dès le début du vingtième siècle par Paul Ehrlich et formalisée sous l'appellation d'immunosurveillance par Lewis Thomas puis Sir Macfarlane Burnet au cours des années 1960 [1]. Ce concept reposait initialement sur des données expérimentales montrant la possibilité d'immuniser des souris appartenant à des lignées consanguines contre des tumeurs provenant de souris appartenant à ces mêmes lignées [2]. Ces résultats ont donné naissance à la notion d'antigènes spécifiques de tumeur susceptibles d'être reconnus par le système immunitaire et de provoquer le rejet tumoral [3]. Cette notion reposait cependant sur un paradoxe puisque les cellules cancéreuses exprimant ces antigènes constituent des tumeurs qui néanmoins progressent et finissent par tuer leur hôte sans rejet apparent. Mais le système immunitaire pourrait détecter les cellules tumorales dès leur apparition, les détruire avant toute manifestation pathologique et assurer ainsi le rejet de nombreuses tumeurs naissantes, seules les cellules échappant à ce processus produisant des cancers cliniquement détectables. En l'absence de cette immunosurveillance, les cancers devraient être beaucoup plus nombreux. Dans cette hypothèse, le processus de reconnaissance des antigènes tumoraux et d'élimination des tumeurs naissantes pouvait être analogue à celui permettant la reconnaissance et le rejet des allogreffes. Cette conception de l'immunosurveillance a été mise en échec par les travaux d'Osias Stutman montrant que par rapport aux souris immunocompétentes ni la fréquence des tumeurs spontanées ni celle des sarcomes induits par un carcinogène chimique, le 3'méthylcholanthrène, n'augmentaient chez les souris *nude*, le meilleur modèle d'animal immunodéficient disponible à l'époque [4, 5]. Les souris *nude* sont dépourvues de thymus, site considéré alors comme nécessaire à la différenciation des lymphocytes T. Cette absence d'augmentation de l'incidence des cancers spontanés ou chimio-induits chez la souris *nude*, contrastant avec la capacité de ces souris à accepter sans rejet non seulement des allogreffes mais aussi des xénogreffes, a conduit à récuser pendant plusieurs décennies le concept même d'immunosurveillance [6].

2 L'IMMUNOSURVEILLANCE EXISTE BIEN, AU MOINS CHEZ LA SOURIS

Le concept d'immunosurveillance a été tiré de l'oubli par des constatations effectuées dans des modèles expérimentaux de tumeurs chez des souris porteuses de perturbations sélectives du système immunitaire. L'interféron-gamma (IFN- γ) est la cytokine principale produite par les lymphocytes T auxiliaires CD4 dans leur différenciation Th1. Une des propriétés majeures de cette cytokine est l'induction d'un effet anti-tumoral. L'IFN- γ est capable d'augmenter l'effet cytotoxique des T CD8 $^{+}$ mais aussi des macrophages et des cellules NK sur les cellules tumorales. L'IFN- γ est produit non seulement par les Th1 mais aussi par d'autres cellules immunitaires dont les lymphocytes T CD8 $^{+}$ et les cellules NK. Le groupe de Robert Schreiber a montré que des injections d'un anticorps monoclonal neutralisant spécifiquement l'IFN- γ accélèrent la croissance d'un fibrosarcome chez la souris et que l'inactivation du récepteur de l'IFN- γ dans des cellules de sarcomes induits par le 3'méthylcholanthrène réduit leur immunogénicité et augmente leur tumorigénicité [7]. De plus, l'induction de tumeurs par administration de 3'méthylcholanthrène est significativement majorée chez des souris après blocage de l'expression du récepteur à l'IFN- γ ou du facteur de transcription STAT1 nécessaire à la transmission du signal généré par les interférons [8]. Une augmentation significative des tumeurs spontanées ou induites par rapport aux souris témoins immunocompétentes a aussi été observée chez des souris génétiquement déficientes en perforine, un constituant des granules cytolytiques présents dans les lymphocytes CD8 $^{+}$ et NK, et impliqués dans l'effet tumoricide de ces cellules [9].

La capacité du système immunitaire à reconnaître et détruire les cellules tumorales dépend à la fois de l'immunité adaptative – particulièrement des lymphocytes T reconnaissant de façon spécifique les antigènes tumoraux – et de l'immunité innée. Le rôle de l'immunité adaptative a été mis en évidence par le groupe de Schneider en utilisant des souris chez lesquelles l'un des gènes RAG1 ou RAG2, tous deux nécessaires à la recombinaison des récepteurs lymphocytaires B (BCR) et T (TCR), était inactivé par mutation. L'action simultanée de ces deux gènes, exclusivement exprimés dans les lymphocytes, est indispensable au réarrangement des récepteurs antigéniques caractérisant les lymphocytes B et T, donc à la génération de lymphocytes fonctionnels. Les souris déficitaires dans l'un de ces deux gènes sont donc complètement dépourvues de ces lymphocytes. Lorsque les souris sont sacrifiées à 15 mois et autopsiées, aucun cancer n'est trouvé chez les souris témoins exprimant les deux gènes RAG fonctionnels. Par contre, la moitié des souris RAG2 $^{-/-}$ chez lesquelles RAG2 a été inactivé par mutation, présente un adénocarcinome intestinal ou pulmonaire et les autres sont porteuses d'adénomes intestinaux, donc de lésions précancéreuses. Les souris RAG2 $^{-/-}$ développent aussi significativement plus de sarcomes après administration de 3'méthylcholanthrène, par rapport aux témoins immunocompétents [10].

Ces résultats montrent que l'immunosurveillance existe bien chez la souris et qu'elle réduit significativement l'incidence des cancers spontanés ou chimio-induits chez les souris immunocompétentes.

3 L'IMMUNOSURVEILLANCE DES CANCERS S'EXERCE AUSSI CHEZ L'HOMME

Les méthodes utilisées pour mettre en évidence l'immunosurveillance des cancers chez la souris ne sont pas applicables chez l'Homme. Il n'existe pas chez l'Homme de populations de sujets syngéniques similaires sur le plan de la génétique et de l'immunologie, *a fortiori* de populations dont le patrimoine génétique a été modifié à des fins expérimentales. Des arguments en faveur d'une immunosurveillance des tumeurs chez l'Homme peuvent néanmoins être tirés d'observations effectuées chez des patients atteints de déficits immunitaires ou traités par des médicaments immunosuppresseurs. D'autres arguments peuvent être obtenus à partir des constatations immunohistologiques effectuées sur les cancers humains.

► 3.1. Incidence des cancers chez les patients immunodéprimés

La fréquence des cancers est significativement accrue chez les patients atteints du syndrome de déficience immunitaire acquise (SIDA) [11]. Cependant la majorité des cancers observés chez ces patients sont d'origine virale (herpes virus pour le sarcome de Kaposi, virus d'Epstein-Barr pour les lymphomes, papilloma virus pour le cancer du col utérin) et peuvent être attribués à un déficit de l'immunité infectieuse antivirale plutôt qu'à une défaillance de l'immunosurveillance antitumorale. On note cependant chez les malades atteints d'un SIDA une augmentation significative de l'incidence de cancers d'origine non virale, notamment des adénocarcinomes du poumon, et ce indépendamment du facteur tabagique [12].

La fréquence des cancers est aussi très élevée dans les syndromes de déficit immunitaire primaire de l'enfant notamment dans le syndrome de Chediak-Higashi et l'ataxie-télangiectasie [13].

Le risque de cancer a aussi été analysé chez des patients recevant un traitement immunosuppresseur au long cours après transplantation d'un organe provenant d'un donneur allogénique. Après transplantation rénale, l'incidence de différents cancers (côlon, pancréas, poumons, reins) est augmentée, notamment celle des carcinomes cutanés [14, 15]. Une augmentation significative de certains cancers, notamment de lymphomes non Hodgkiniens, de carcinomes cutanés, de carcinomes de la tête et du cou, a aussi été notée après transplantation cardiaque ou hépatique [16].

► 3.2. L'infiltration des cancers humains par des cellules immunitaires et sa relation avec le pronostic

Histologiquement, les cancers se présentent comme des tissus complexes associant aux cellules tumorales un stroma, des fibroblastes, des vaisseaux sanguins et lymphatiques et des cellules immunitaires relevant de l'immunologie innée (macrophages et autres cellules myéloïdes, cellules dendritiques, cellules NK) et de l'immunologie adaptative (lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺, lymphocytes NKT, lymphocytes B). Si l'immunosurveillance s'applique aux tumeurs humaines, ces cellules immunitaires doivent jouer un rôle positif ou négatif dans les mécanismes d'immunosurveillance des cancers. Chez l'Homme, ces effets peuvent être explorés en déterminant les relations entre la densité de l'infiltration des tumeurs par un type donné de cellule immunitaire et la survie des patients. Cependant la variété des cellules immunitaires infiltrant les tumeurs et la complexité de leurs interactions incitent à la prudence : ce n'est pas parce que la densité d'une population cellulaire est positivement ou négativement corrélée à la survie que cette cellule intervient directement dans le processus de l'immunosurveillance.

Les premiers résultats significatifs ont été obtenus dans les mélanomes invasifs où la survie des patients est significativement corrélée à la densité de l'infiltration tumorale par les lymphocytes et notamment par les cellules T [17]. La même relation a été découverte pour d'autres cancers, dont les carcinomes de l'ovaire [18] et les adénocarcinomes colorectaux [19]. L'effet favorable sur la survie des patients est lié à la densité de l'infiltration tumorale en lymphocytes T mémoire, en lymphocytes Th1 et en lymphocytes cytotoxiques CD8⁺. Une infiltration dense par des cellules NK (cellules CD57+) a été aussi associée à une survie prolongée chez les patients atteints d'un cancer colorectal au stade III [20]. Récemment, un travail considérable du groupe de Jérôme Galon a consisté en une analyse spatio-temporelle de trois séries totalisant 365 cancers colorectaux. Une étude génomique et phénotypique de 28 variétés ou sous-types de cellules immunitaires adaptatives ou innées infiltrant ces cancers a été réalisée à différents stades de l'évolution tumorale [21]. Cette étude a confirmé le rôle pronostique favorable d'une infiltration dense par les cellules Th1 et CD8⁺, a confirmé l'effet défavorable des lymphocytes Th17, effet qui pourrait être en partie expliqué par la capacité de ces cellules à produire une molécule immunosuppressive, l'adénosine, sous l'effet d'ectonucléotidases [22, 23]. Par contre, Bindea *et al.* n'ont trouvé aucun effet significatif des T régulateurs caractérisés par leur expression de Foxp3. Un point important apporté par ce travail est la mise en évidence d'un effet pronostique favorable des lymphocytes B et des cellules T folliculaires (Tfh), une sous classe de lymphocytes CD4⁺ qui interagit avec les lymphocytes B en permettant leur différenciation et leur survie. Les lymphocytes B pourraient alors agir sur les Th1 en activant leurs propriétés anti-tumorales. Une relation entre une infiltration tumorale en lymphocytes B et une évolution clinique favorable avait déjà été montrée pour les cancers de l'ovaire, du sein, du pharynx et pour les mélanomes (revu par Linnebacher [24]). Une autre conclusion importante du travail de Bindea *et al.* est la démonstration d'une évolution en fonction du stade invasif de la tumeur de l'infiltrat

cellulaire capable de modifier le pronostic des patients : un effet pronostique favorable est essentiellement lié à la densité de l'infiltration par les lymphocytes Th1 et CD8⁺ dans les tumeurs non encore invasives, alors que cet effet favorable est lié à la densité de l'infiltration en cellules myéloïdes (macrophages, cellules dendritiques) et en lymphocytes B dans les cancers colorectaux arrivés au stade invasif et métastatique.

Il est donc certain que l'immunosurveillance n'est pas limitée aux tumeurs expérimentales des rongeurs mais qu'elle exerce aussi son effet sur l'évolution des cancers chez l'Homme.

4 LES MÉCANISMES DE L'IMMUNOSURVEILLANCE DES CANCERS. IMMUNITÉ ADAPTATIVE OU IMMUNITÉ INNÉE ?

Les résultats expérimentaux obtenus chez la souris et que nous avons présentés plus haut tendraient à attribuer préférentiellement l'immunosurveillance à l'immunité adaptative puisque la fréquence des tumeurs est augmentée chez les souris RAG-2^{-/-} incapables de construire les récepteurs reconnaissant les antigènes, récepteurs caractérisant les lymphocytes T et B. En fait les tentatives de dissection fonctionnelle de la réponse immunitaire impliquée dans l'immunosurveillance des tumeurs montrent que cette réponse met en jeu un réseau complexe de cellules intervenant dans la réponse immunitaire innée, dont les cellules NK et les macrophages, et dans la réponse immunitaire adaptative, dont les lymphocytes T CD4⁺ ou CD8⁺ exprimant le récepteur $\gamma\delta$ ou $\alpha\beta$ et les cellules NKT (voir [6], table I). L'immunosurveillance, déjà altérée chez les souris RAG2^{-/-} par rapport aux souris immunocompétentes, est encore plus déficiente lorsque les souris RAG2^{-/-} sont aussi porteuses d'une altération du gène codant la chaîne gamma commune aux récepteurs de plusieurs cytokines dont les interleukines 2, 4, 7, 9, 15 et 21 (souris Rag2^{-/-} x γc ^{-/-}), ce qui se traduit par une incidence plus élevée des sarcomes induits par le 3'méthylcholanthrène chez les souris Rag2^{-/-} x γc ^{-/-} que chez les souris RAG2^{-/-} [25]. À la différence des souris RAG2^{-/-}, les souris Rag2^{-/-} x γc ^{-/-} sont totalement dépourvues de cellules NK [26]. L'importance des cellules NK dans l'immunosurveillance des cancers avait déjà été mise en évidence par l'augmentation significative des sarcomes induits par le 3'méthylcholanthrène chez des souris sélectivement déplétées en cellules NK par un anticorps anti-asialoGM1 [27]. Contrairement aux lymphocytes T qui peuvent identifier les cellules cancéreuses en reconnaissant les antigènes tumoraux présentés par les molécules du CMH, les cellules NK ne reconnaissent pas ces antigènes mais peuvent être activées par des signaux de stress ou de danger comme les protéines de surface RAE1 et H60 chez la souris, MICA et MICB chez l'Homme. Ces protéines sont absentes des cellules saines mais exprimées par les cellules cancéreuses en réponse aux altérations de leur ADN et reconnues par des récepteurs activateurs des

NK dont le récepteur NKG2D [28]. L'importance de NKG2D dans les mécanismes de l'immunosurveillance est montrée par l'augmentation de fréquence des sarcomes induits par le 3'méthylcholanthrène chez des souris recevant un anticorps neutralisant NKG2D [29] et celle des tumeurs spontanées chez des souris transgéniques spécifiquement déficitaires en ce récepteur mais ne présentant pas d'autre anomalie des cellules NK [30]. Activées par ces récepteurs, les cellules NK acquièrent la capacité de lyser les cellules tumorales par l'intermédiaire de granules cytotoxiques contenant perforine et granzymes ou en libérant les ligands de récepteurs de mort exprimés par les cellules tumorales, comme FAS ligand, TRAIL ou le facteur de nécrose tumorale TNF, reconnus respectivement par FAS, TRAIL ligand et TNF-R1, et induisant la mort par apoptose des cellules cancéreuses. Un autre mécanisme de l'immunosurveillance médié par les cellules NK est la libération de cytokines dont l'IFN- γ , le TNF et le GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) qui peuvent activer les NK en boucle autocrine mais aussi d'autres cellules cytotoxiques dont les T CD8⁺ et les macrophages [31]. Chez les souris immunocompétentes et chez les souris RAG2^{-/-}, les cellules NK ne lysent pas directement les cellules tumorales mais produisent de l'IFN- γ qui active les macrophages infiltrant les tumeurs et les différencie en macrophages M1. À la différence des macrophages M2 pro-tumorigènes, les macrophages M1 expriment la NO-synthase inductible et produisent ainsi de l'oxyde nitrique et des dérivés nitrés qui détruisent les cellules cancéreuses en contact direct de ces macrophages. Ces macrophages M1 localisés dans la tumeur pourraient être, plus encore que les lymphocytes CD8 cytotoxiques ou les cellules NK, les effecteurs majeurs capables de détruire les cellules cancéreuses et donc impliqués dans l'immunosurveillance des cancers [25]. L'immunosurveillance des cancers met donc en jeu chez la souris au moins deux grands mécanismes de destruction des cellules tumorales distincts l'un de l'autre bien que fortement intriqués: la voie des lymphocytes T, reconnaissant spécifiquement les antigènes tumoraux et activant les T cytotoxiques, et la voie des cellules NK, reconnaissant des signaux de stress ou de danger émis par les cellules cancéreuses et activant la cytotoxicité de macrophages infiltrant les tumeurs. Il est intéressant de souligner que les cellules NK et les macrophages responsables de ce deuxième mode d'immunosurveillance sont présents et fonctionnels chez la souris *nude* athymique et peuvent ainsi contribuer à la persistance de l'immunosurveillance chez ces souris. Les deux voies ont en commun l'implication de l'IFN- γ qui agit à la fois sur les effecteurs lymphocytaires (lymphocytes T cytotoxiques, cellules NK) et sur les macrophages. D'autres cellules productrices d'IFN- γ peuvent aussi être impliquées dans l'immunosurveillance des cancers, comme les cellules dendritiques IKDC qui expriment certains marqueurs des cellules NK, produisent activement l'IFN- γ , et sont capables de lyser directement les cellules tumorales [32]. On doit aussi rappeler que l'activation des cellules NK, traduite par leur capacité de détruire les cellules tumorales, dépend d'un système complexe de récepteurs comprenant des récepteurs activateurs mais aussi des récepteurs inhibiteurs activés par l'expression des molécules de classe I du CMH à la surface de la cible. C'est l'expression défectueuse de ces molécules souvent déficiente à la surface des cellules tumorales qui lève cette inhibition et autorise les mécanismes de destruction.

Nous ne disposons pas d'informations aussi complètes concernant les mécanismes de l'immunosurveillance des tumeurs humaines. Cependant les données obtenues en analysant l'effet pronostique des différentes lignées de cellules immunitaires infiltrant ces tumeurs confirment le rôle de l'immunité adaptative et notamment des lymphocytes Th1 dans ce contrôle. En montrant l'effet pronostique favorable de l'infiltration par les lymphocytes Tfh et B, le groupe de J. Galon [21] a ouvert une autre voie explicitant l'immunosurveillance: l'infiltration de la tumeur par les cellules folliculaires Tfh permettrait le recrutement et l'activation de lymphocytes B dans la tumeur. Ceux-ci provoqueraient la destruction des cellules tumorales par un mécanisme mettant en jeu les lymphocytes T : présentation des antigènes, costimulation, production de cytokines [33]. D'autres équipes ont montré l'effet pronostique favorable d'une infiltration par les lymphocytes B des mélanomes [34] et des cancers mammaires [35] ou d'une infiltration par des lymphocytes Tfh dans les cancers mammaires [36] mais sans rechercher d'interaction entre lymphocytes Tfh et lymphocytes B.

5 LES LIMITES DE L'IMMUNOSURVEILLANCE : L'ÉDITION IMMUNITAIRE DES CELLULES CANCÉREUSES. HÉTÉROGÉNÉITÉ DES CANCERS ET SÉLECTION DARWINIENNE

Les limites de l'immunosurveillance sont objectivées, tant chez l'Homme que chez l'animal, par l'existence de cancers, qu'ils soient induits ou d'apparence spontanée, même lorsque le système immunitaire de l'hôte est intact et fonctionnel [37]. L'échappement d'une tumeur à l'immunosurveillance résulte de modifications des cellules cancéreuses elles-mêmes ou du système immunitaire qui les contrôle. La majorité des cancers provient de la transformation d'une seule cellule et a donc une origine monoclonale. Cependant sous l'effet des mutations génétiques liées à l'instabilité génomique, et des modifications épigénétiques de l'ADN et des histones, ces cellules se diversifient en sous-populations qui diffèrent dans leur capacité invasive, leur propension à générer des métastases, leur sensibilité ou leur résistance au traitement, mais aussi dans leur capacité à induire une réponse immunitaire et leur sensibilité à cette réponse [38].

► 5.1. Les cellules tumorales sont « éditées » par le système immunitaire

Le groupe de Schreiber a montré que l'immunosurveillance pouvait moduler l'immunogénicité des tumeurs chez la souris en détruisant sélectivement les cellules les plus sensibles à l'immunosurveillance, donc en sélectionnant la survie des variants

cellulaires les plus résistants [39]. Lorsque des tumeurs obtenues en exposant au 3'méthylcholanthrène des souris normales immunocompétentes ou des souris immunodéprimées Rag2^{-/-} sont greffées soit à des souris normales, soit à des souris Rag2^{-/-}, les souris Rag2^{-/-} acceptent toutes les tumeurs, qu'elles proviennent de souris Rag2^{-/-} ou de souris immunocompétentes. Par contre, les souris normales rejettent fréquemment les tumeurs provenant des souris Rag2^{-/-} alors qu'elles acceptent toutes les tumeurs induites chez des souris normales. Ces résultats montrent que le système immunitaire des souris normales est capable de sélectionner (« d'éditer ») les tumeurs en supprimant les cellules tumorales exprimant fortement les antigènes reconnus par les lymphocytes T. Ces cellules sont de ce fait les plus sensibles à la réponse immunitaire mais aussi les plus immunogènes. Lorsque la tumeur initiale contient un contingent de cellules qui n'expriment pas, ou faiblement, ces antigènes, cette sous-population prendra le pas sur les autres sous-populations plus immunogènes donc plus sensibles à l'immunosurveillance [40, 41]. Une conséquence soulignée par Schreiber et ses collaborateurs est importante : **les cancers apparus chez des sujets immunocompétents sont des tumeurs éditées, provenant de cellules qui ont résisté à l'immunosélection et dont les descendantes ont hérité de cette résistance. Cette propriété doit logiquement limiter l'efficacité de l'immunothérapie conventionnelle des cancers.**

► 5.2. Les mécanismes de l'échappement des tumeurs à l'immunosurveillance

L'immunogénicité et la sensibilité des tumeurs conditionnant leur acceptation ou leur rejet dépendent de l'expression des antigènes tumoraux et des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) qui permettent la présentation de ces antigènes aux lymphocytes T, mais aussi de l'expression des signaux de stress et de danger et de l'expression de molécules favorisant ou bloquant l'apoptose des cellules cancéreuses. La majorité des cellules tumorales exprime des antigènes reconnus par le système immunitaire. Certains de ces antigènes sont communs aux cellules tumorales présentes dans de nombreux types de tumeurs, mais sont aussi exprimés par certaines cellules normales et sont donc facilement tolérés par le système immunitaire. D'autres antigènes résultent des mutations géniques aléatoires affectant les cellules cancéreuses au cours de l'oncogénèse. À la différence des antigènes communs, ces antigènes sont restreints à des tumeurs individuelles et peuvent générer une réponse immunitaire beaucoup plus puissante que les antigènes communs, mais leur détection est rendue plus difficile du fait de leur caractère privé [42]. La stimulation prolongée des lymphocytes T provoquée par leur exposition permanente aux antigènes tumoraux peut induire un état de tolérance consécutif à la disparition ou à l'inactivation des lymphocytes T capables de reconnaître ces antigènes ou à leur conversion en lymphocytes T régulateurs immunosuppresseurs [43]. Mais surtout le système immunitaire peut détruire sélectivement les cellules tumorales exprimant fortement les antigènes tumoraux ou des molécules du CMH nécessaires à leur présentation au système immunitaire [44]. Elles peuvent aussi réduire l'expression des ligands de NKG2D ou diminuer l'expression du récepteur NKG2D à la surface des cellules NK [31]. Les cellules tumorales peuvent perdre leur

capacité à répondre à l'interféron-gamma en n'exprimant plus son récepteur ou les signaux dont STAT1 induits par l'activation du récepteur [45]. Les cellules tumorales peuvent aussi échapper à la lyse induite par le système immunitaire en augmentant leur expression en protéines anti-apoptotiques comme BCL-XL et FLIP [46]. Elles peuvent exprimer l'indolamine-2,3-dioxygénase (IDO), une enzyme qui catabolise activement le tryptophane, un acide aminé nécessaire à la survie des lymphocytes T, et génère la kinurénine qui altère les fonctions antitumorales de ces lymphocytes [47]. Les cellules tumorales peuvent exprimer à leur surface d'autres molécules inhibant l'action cytotoxique des lymphocytes T et des cellules NK, comme HLA-G [48] ou HLA-E [49]. À la différence des cellules normales, les cellules cancéreuses expriment souvent le ligand PDL-1 dont l'association avec le récepteur PD-1 exprimé par les lymphocytes T effecteurs et les NK inhibe les fonctions de ces cellules et notamment leur production de cytokines [50]. Les cellules tumorales peuvent aussi sécréter des cytokines et des facteurs comme le TGF- β [51] et l'interleukine-10 [52] qui suppriment les fonctions anti-tumorales des lymphocytes T et des cellules NK.

L'échappement des cellules tumorales à l'immunosurveillance peut aussi être favorisé par la génération de cellules immunosuppressives dont les deux populations les mieux étudiées sont les lymphocytes T régulateurs (Treg) [53] et les cellules myéloïdes immunosuppressives (MDSC) [54]. Induits par le TGF- β produit par les cellules tumorales, les lymphocytes T régulateurs expriment fortement les marqueurs de surface CD4 et CD25, ainsi que le facteur de transcription Foxp3. Ils inhibent les fonctions des T cytotoxiques, mais aussi celles d'autres cellules intervenant dans la réponse immunitaire anti-tumorale comme les NK, les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes B, prévenant ainsi la destruction des cellules tumorales. Les Treg expriment constitutivement CTLA-4, un récepteur des molécules B7 apparenté au co-récepteur CD28 mais qui inhibe la réponse lymphocytaire T au lieu de l'activer. Chez les sujets porteurs d'un cancer, l'expression de CTLA-4 peut aussi être induite sur les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ effecteurs et contribuer à leur anergie [55]. Les MDSC sont des cellules myéloïdes immatures induites par les cytokines proinflammatoires produites par les cellules tumorales, telles que le GM-CSF, l'IL-1 β et le VEGF. Les MDSC constituent une population hétérogène rassemblant des cellules monocytaires ou polymorphonucléaires qui inhibent l'activation des lymphocytes T effecteurs et favorisent la génération des Treg à partir des lymphocytes T indifférenciés.

► 5.3. Immunosurveillance ou échappement : les scénarios possibles

La mise en jeu respective de l'immunosurveillance et de l'échappement des cellules tumorales à la destruction peut aboutir à des scénarios variés que le groupe de Schneider a classifiés comme constituant les trois « **E** » de l'**immunosurveillance** : **Elimination** – **Equilibre** – **Echappement** [56].

L'élimination peut aboutir à l'éradication complète de la tumeur lorsque la totalité des cellules cancéreuses a été détruite. Cette éventualité est bien mise en évidence chez les rongeurs lorsque l'on compare l'incidence des tumeurs spontanées ou

induites chez les sujets immunocompétents ou porteurs de déficit immunitaire comme les souris RAG2^{-/-}. Cette éradication survient généralement à un stade précoce de l'oncogenèse, avant que la tumeur ne puisse être mise en évidence [57]. Il est probable, mais non formellement prouvé que des éradications comparables surviennent dans l'espèce humaine. Des cas exceptionnels, mais incontestables, de régression complète spontanée de cancers établis ou même métastatiques ont été rapportés chez l'Homme, notamment dans les mélanomes [58, 59].

Un autre scénario possible est l'instauration d'un **équilibre** entre le renouvellement des cellules cancéreuses et leur destruction du fait de leur échappement à la surveillance immunitaire. Cet équilibre peut se prolonger pendant toute la vie de l'animal chez lequel le cancer restera méconnu puisque la tumeur bloquée occupe en général un volume limité. Mais l'équilibre peut être rompu par une évolution de la population des cellules cancéreuses ou par une défaillance des mécanismes immunitaires impliqués dans la surveillance [60]. Ces tumeurs en sommeil, mais susceptibles de reprise évolutive, peuvent consister en foyers métastatiques de cellules tumorales dormantes qui peuvent se réveiller longtemps après l'éradication complète de la tumeur primitive. Dans un modèle de mélanome spontané de la souris, l'apparition de métastases détectables peut être bloquée pendant plusieurs mois après l'exérèse tumorale sous l'effet d'une cytotase induite par les lymphocytes CD8⁺ cytotoxiques [61].

Une troisième possibilité est l'échappement des cellules cancéreuses qui s'évadent du contrôle de l'immunosurveillance, se multiplient et envahissent les tissus voisins ou constituent des métastases à distance de la tumeur primaire. Il est probable que cet échappement ne soit que relatif et que le système immunitaire continue à exercer un contrôle sur l'évolution des tumeurs. Les modalités et les mécanismes de cet échappement varient d'une espèce à l'autre (Homme-souris), suivant le type et la localisation de la tumeur, mais aussi d'une tumeur à l'autre pour un même type de cancer en fonction des antigènes tumoraux exprimés et de la réactivité du système immunitaire à ces antigènes. Pour une tumeur donnée, le contrôle de l'échappement peut mettre en jeu des mécanismes qui varient en fonction de l'évolution et de l'extension de la tumeur comme cela été montré par le groupe de Galon pour les cancer coliques humains [21]. Une immunosurveillance mettant en jeu les interférons de type I produits par les cellules tumorales intervient sélectivement dans le contrôle des métastases dans un modèle de cancer mammaire chez la souris. La suppression de la production de ces interférons permet aux cellules tumorales d'échapper à cette surveillance et de constituer des métastases évolutives dans différents tissus [62].

L'immunosurveillance ne contrôle donc pas seulement les tumeurs naissantes dont elle peut provoquer l'avortement, mais freine aussi la croissance des cancers qui lui ont échappé et peut limiter le facteur essentiel de létalité dans les cancers : la dissémination métastatique de la tumeur.

Il faut aussi noter que toutes les tumeurs ne sont pas sujettes à l'immunosurveillance. Pour que le système immunitaire détruise efficacement les cellules cancéreuses, il faut qu'il soit activé. Les lymphocytes T ne reconnaissent les antigènes tumoraux que s'ils leur sont présentés par des cellules présentatrices activées par des signaux de stress ou de danger [63]. Ces signaux interviennent aussi dans l'activation des propriétés

62. de Vries I.J., et al. (2011) Frequency of circulating Tregs with demethylated FOXP3 intron 1 in melanoma patients receiving tumor vaccines and potentially Treg-depleting agents. *Clin. Cancer Res.* 17: 841.
63. Pere H., et al. (2012) Comprehensive analysis of current approaches to inhibit regulatory T cells in cancer. *Oncoimmunology* 1: 326.
64. Pere H., et al. (2011) A CCR4 antagonist combined with vaccines induces antigen-specific CD8+ T cells and tumor immunity against self antigens. *Blood* 118: 4853.
65. Denkert C., et al. (2010) Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 28: 105.
66. Halama N., et al. (2011) Localization and density of immune cells in the invasive margin of human colorectal cancer liver metastases are prognostic for response to chemotherapy. *Cancer Res.* 71: 5670.
67. Topalian S.L., et al. (2012) Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N. Engl. J. Med.* 366: 2443.
68. Yuan J., et al. (2011) Integrated NY-ESO-1 antibody and CD8+ T-cell responses correlate with clinical benefit in advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 16723.
69. Hamid O., et al. (2011) A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J. Trans. Med.* 9: 204.
70. Ji R.R., et al. (2012) An immune-active tumor microenvironment favors clinical response to ipilimumab. *Cancer Immunol. Immunother.* 61: 1019.
71. Dhodapkar K.M., Gettinger S.N., Das R., Zebroski H., Dhodapkar M.V. (2013) SOX2-specific adaptive immunity and response to immunotherapy in non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology* 2: e25205.
72. Iida N., et al. (2013) Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. *Science* 342: 967.
73. Viaud S., et al. (2013) The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide. *Science* 342: 971.
74. Remark R., et al. (2013) Characteristics and clinical impacts of the immune environments in colorectal and renal cell carcinoma lung metastases: influence of tumor origin. *Clin. Cancer Res.* 19: 4079.

GLOSSAIRE

Ab	Anticorps
ADCC	Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant des anticorps (Antibody Dependant Cell Cytotoxicity)
ACT	Transfert adoptif de cellules T
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AICD	Activation induced cell death
ARNm	ARN messenger
ATP	Acide triphosphate
CAIX	Anhydrase carbonique IX
CARs	Chimeric antigen receptors
CCRm	Cancer à cellules rénales métastatique
CD	Cellule dendritique
CDC	Cytotoxicité par activation du système du complément
CGH	Hybridation génomique comparative
CMH	Complexe majeur d'histocompatibilité
CRT	Calréticuline
CSH	Cellules souches hématopoïétiques
CTA	Cancer testis antigen
CTL	Lymphocytes T cytotoxiques
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte Antigen 4
DNAM-1	DNAX accessory molecule-1 ou CD226
EFS	Survie sans événement
EW	Sarcome d'Ewing
FAS	Fragment Stimulant l'apoptose ou CD95