



oncologie

Pharmacologie des Cancers

Jacques Robert

Lavoisier
Médecine
SCIENCES

Jacques Robert

Pharmacologie des cancers

Jacques Robert

Professeur des universités – Praticien hospitalier

Institut Bergonié

229 cours de l'Argonne

33076 Bordeaux Cedex

© 2015, Lavoisier, Paris

ISBN : 978-2-257-20622-0

Cet ouvrage est soumis au copyright. Tous droits réservés, notamment la reproduction et la représentation, la traduction, la réimpression, l'exposé, la reproduction des illustrations et des tableaux, la transmission par voie d'enregistrement sonore ou visuel, la reproduction par microfilm ou tout autre moyen ainsi que la conservation des banques de données. La loi française sur le *copyright* du 9 septembre 1965 dans la version en vigueur n'autorise une reproduction intégrale ou partielle que dans certains cas, et en principe moyennant le paiement des droits. Toute représentation, reproduction, contrefaçon ou conservation dans une banque de données par quelque procédé que ce soit est sanctionnée par la loi pénale sur le copyright.

L'utilisation dans cet ouvrage de désignations, dénominations commerciales, marques de fabrique, etc. même sans spécification ne signifie pas que ces termes soient libres de la législation sur les marques de fabrique et la protection des marques et qu'ils puissent être utilisés par chacun.

La maison d'édition décline toute responsabilité quant à l'exactitude des indications de dosage et des modes d'emploi. Dans chaque cas il incombe à l'utilisateur de vérifier les informations données par comparaison à la littérature existante.

Direction éditoriale : Fabienne Roulleaux

Édition : Claire Viader, Élodie Lecoquerre

Fabrication : Estelle Perez

Couverture : Isabelle Godenèche

Composition : Desk

Impression : Lego (Italie)

Sommaire

Préface	VII
Remerciements	IX
Avant-propos	XI

Première partie La chimiothérapie des cancers

Chapitre 1 • Histoire de la chimiothérapie des cancers	3
Chapitre 2 • Réalisation pratique de la chimiothérapie des cancers	17

Deuxième partie Concepts de base pour la pharmacologie des cancers

Chapitre 3 • Pharmacocinétique.....	35
Chapitre 4 • Pharmacogénétique.....	51
Chapitre 5 • Pharmacogénomie.....	67
Chapitre 6 • Métabolisme.....	85
Chapitre 7 • Transport.....	109
Chapitre 8 • Modèles précliniques.....	129
Chapitre 9 • Sensibilité et résistance aux agents anticancéreux	145
Chapitre 10 • Développement thérapeutique en oncologie	165

Troisième partie Outils thérapeutiques

Chapitre 11 • Petites molécules.....	183
Chapitre 12 • Anticorps monoclonaux.....	203
Chapitre 13 • Peptides et oligonucléotides	219
Chapitre 14 • ADN, protéines, cellules, virus.....	233
Chapitre 15 • Ciblage et vectorisation des agents anticancéreux.....	243

Quatrième partie Médicaments antiprolifératifs

Chapitre 16	• Agents alkylants	267
Chapitre 17	• Antimétabolites.....	307
Chapitre 18	• Inhibiteurs de topoisomérases	337
Chapitre 19	• Poisons du fuseau	371

Cinquième partie Thérapies ciblées

Chapitre 20	• Hormonothérapie.....	393
Chapitre 21	• Récepteurs des signaux de prolifération	413
Chapitre 22	• Voies de la prolifération cellulaire	435
Chapitre 23	• Cycle cellulaire	455
Chapitre 24	• Apoptose.....	471
Chapitre 25	• Immortalité des lignées cellulaires.....	479
Chapitre 26	• Métastase	487
Chapitre 27	• Angiogenèse	513
Chapitre 28	• Instabilité génomique.....	527
Chapitre 29	• Cibles épigénétiques	541
Chapitre 30	• Stimulation des défenses immunitaires	569
Index général		591
Index des molécules et des médicaments		605
Index des gènes et des protéines		627

Préface

Je dois remercier Jacques Robert de s'être investi de façon si minutieuse dans ce traité à la fois encyclopédique et synthétique de pharmacologie des agents anticancéreux. Il a porté un soin tout particulier à l'iconographie et, de ce fait, la normalisation apportée aux structures, cibles, réactions, permet au lecteur de se repérer vite et précisément. Vous y trouverez une infrastructure solide accueillant les 30 chapitres de cet ouvrage ; des chapitres présentés de façon pédagogique par l'auteur, eux-mêmes regroupés en parties dans une progression parfaitement logique.

Ainsi, la première partie est-elle un *vade mecum* de la chimiothérapie, la seconde présente les concepts indispensables à la mise en œuvre d'un traitement anticancéreux où sont introduits la pharmacogénétique et la pharmacogénomie, le métabolisme des agents, le rôle des transporteurs puis, la pharmacologie non clinique et enfin les modèles. On revient aux mécanismes de sensibilité et de résistance pour terminer sur la méthodologie des essais thérapeutiques. Ainsi, les bases indispensables sont-elles posées.

Dès la troisième partie, on aborde dans le détail les différents agents anticancéreux par leur structure, leurs interactions physicochimiques et leur mécanisme d'action. Les anticorps monoclonaux, les peptides et oligonucléotides sont développés de la même façon. Viennent enfin l'ADN, les cellules et virus à visée thérapeutique, le ciblage et la vectorisation. Cette partie

introduit donc de manière détaillée et distinctive les différents types d'agents.

Ceux-ci, dans la quatrième partie – agents cytotoxiques – et dans la cinquième – agents ciblés – sont détaillés avec précision et, je dirais, apportent « le nécessaire » qui permet de maîtriser les agents usuels et de comprendre ceux en devenir. Sont ajoutés les éléments physio-pathogéniques indispensables à la compréhension des mécanismes d'action et aux résistances aux agents ciblés.

Très opportunément les paramètres de la réponse immune anti-tumorale et de sa modulation font l'objet du dernier chapitre.

Je vous invite à entrer dans ce traité, à lire d'un ou quelques traits les deux premières parties, puis à aborder les autres chapitres au gré des besoins et des intérêts. Cet ouvrage unique en France devrait former les futurs et actuels cancérologues.

Merci encore, Jacques, pour ta précision, ta minutie et ton aptitude à dégager l'important et l'essentiel !

*Pr Michel Marty
Président de la Société Française du Cancer
Centre des Innovations thérapeutiques
en Oncologie et Hématologie
Hôpital Saint-Louis
1, avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris*

Remerciements

J'ai commencé à m'intéresser à la pharmacologie des agents anticancéreux dès mon arrivée à Bordeaux, en 1978. Cela résultait d'un choix, heureux ou malheureux, je ne sais. Malgré ma formation de biochimiste, le domaine des marqueurs tumoraux sériques me paraissait s'apparenter à la quête d'un inaccessible Graal, et mon isolement technique ne me permettait pas de me lancer dans la course aux oncogènes dont le concept venait de naître. La pharmacologie des anticancéreux était pilotée en France par Jean-Paul Cano qui avait stimulé plusieurs équipes françaises en les orientant, l'une vers les dérivés du platine, une autre vers les antimétabolites, une troisième vers les poisons du fuseau. Une approche associant clinique et biologie me paraissait riche d'avenir—on ne parlait pas encore de recherche translationnelle, mais c'était bien de cela qu'il s'agissait. Étudier le devenir des médicaments dans l'organisme des patients traités afin de pouvoir en optimiser l'utilisation, rechercher les mécanismes moléculaires d'action de ces médicaments, construire des modèles cellulaires pour comprendre les déterminants de la sensibilité et de la résistance à ces médicaments, telles étaient les voies ouvertes par cette thématique, aux confins de la biochimie, de la pharmacologie et de la cancérologie. Ultérieurement, tenter d'associer des caractéristiques moléculaires portées par les patients et leur tumeur à l'efficacité et à la toxicité des traitements m'est apparu le prolongement logique de ces approches.

Sur quelle famille d'anticancéreux travailler ? Le choix initial des anthracyclines me fut proposé par Bernard Høerni, je n'ai pas eu à le regretter. Par la suite, j'ai pu diversifier les molécules étudiées, passer de la pharmacologie clinique à la pharmacologie cellulaire et moléculaire, puis à la pharmacogénétique et à la génomique. Mon objectif initial d'identifier des marqueurs prédictifs de réponse aux agents anticancéreux est resté le même au long de cette évolution et la recherche d'une utilité clinique a guidé en permanence mon parcours. Ma contribution personnelle à ces questions reste très modeste, au regard de l'explosion qu'a connue la chimiothérapie des cancers au cours de ces trente années. J'ai voulu dans ce livre faire profiter étudiants et oncologues de l'ex-

périence que j'ai pu acquérir dans tous les domaines de la pharmacologie anticancéreuse, en sachant bien que ce n'est qu'un « arrêt sur image » d'une réalité scientifique et médicale en perpétuel changement.

Je voudrais dédier cet ouvrage à tous ceux qui m'ont tiré de mon isolement (j'étais bien le seul à Bordeaux, dans les années 1980 et 1990, à m'intéresser à la pharmacologie du cancer !) en m'intégrant dans ces groupes de travail que sont le GPCO (Groupe de pharmacologie clinique oncologique) sur le plan national et le PAMM Group (*Pharmacology and Molecular Mechanisms Group*) sur le plan européen. Claude Ardiet, Gérard Bastian, Pierre Canal, Roger Favre, Alain Gouyette, Bernard Hecquet, François Lokiec, Brigitte Tranchand, dans le cadre du GPCO, François Lavelle, Christian Riché, Jean-Louis Cazin, dans d'autres cadres, m'ont apporté très tôt leur indéfectible soutien et leur amitié ; la relève a été prise par de plus jeunes, parmi lesquels Étienne Chatelut, Amélie Lansiaux, Chantal Le Guellec, Marie-Christine Étienne, Alexandre Évrard et tant d'autres que je ne peux nommer, et la troisième génération arrive en trombe avec, pour ne citer qu'eux, Joseph Ciccolini et Fabienne Thomas. Au niveau du PAMM Group, c'est à Herbie Newell, Paul Workman, Maurizio d'Incalci, Wim van der Vijgh, Joachim Boos, Frits Peters, David Kerr, Malcolm Stevens, et le si chaleureux Tom Connors, pour ne citer que quelques « anciens » parmi les plus mémorables, que je souhaite dédier ce livre. Outre-Atlantique, les liens d'amitié que j'ai pu nouer avec Dean Brenner, William Beck, James Doroshow, Tito Fojo, David Gewirtz, Susan Horwitz, Yves Pommier, Igor Roninson, Branimir Sikic, Susan Bates et bien d'autres m'ont encouragé à poursuivre dans la voie que j'avais choisie. La science avance grâce aux échanges entre pairs et le respect mutuel pour notre travail n'exclut ni les conseils ni les critiques. Que tous les membres du GPCO et du PAMM Group, les anciens et les modernes, ainsi que les amis d'Amérique trouvent ici ma reconnaissance pour ce qu'ils m'ont apporté.

J'ai demandé à plusieurs de ces amis, parmi lesquels de nombreux membres du GPCO, de bien vouloir relire avec attention certains chapitres de cet

ouvrage : on n'est jamais savant tout seul et le regard des autres est indispensable. Je remercie vivement Bernard Hoerni, Paul Cappelaere, Étienne Chatelut, Alexandre Évrard, Marie-Christine Étienne, Chantal Le Guellec, Philippe Pourquier, Patricia Vrignaud, Bernard Asselain, Christian Jarry, Hervé Watier, Catherine Dubernet, Amélie Lansiaux, Anthony Gonçalves, Nadine Houédé, Patricia de Cremoux, Claude Prigent, Chantal Trentesaux de m'avoir aidé à éliminer les erreurs les plus flagrantes du manuscrit. Il en reste certainement : j'en suis le seul responsable. Mais je convie tous mes lecteurs à me faire part de leurs remarques, suggestions et corrections afin d'améliorer le contenu de cet ouvrage lors d'une prochaine édition...

Enfin, je dois dire que ce fut un plaisir que de travailler avec l'équipe de Springer France, qui m'a fait confiance pour cet ouvrage comme pour le précédent, et ensuite avec l'équipe de Lavoisier, qui a repris le flambeau en cours de route ; je suis très vivement reconnaissant à Nathalie L'Horset-Poulain qui a apporté à chaque étape de l'édition une grande attention et m'a permis d'obtenir un « produit fini » de très belle présentation, en tous points conforme à ce dont j'avais rêvé... Merci également à Claire Viader et Dalila Goual d'avoir contribué, avec une infinie patience et un regard précis et toujours pertinent, à la mise en forme de cet ouvrage. Merci enfin à Fabienne Roulleaux et Élodie Lecoquerre d'avoir parachévé ce travail éditorial de longue haleine.

Avant-propos

Voilà plus de cinquante ans que les premiers médicaments anticancéreux ont été utilisés dans le traitement des leucémies et des lymphomes. Longtemps confinée à quelques indications rares, la chimiothérapie est devenue une arme thérapeutique majeure de la plupart des cancers, utilisée le plus souvent en association avec les autres modalités de traitement que sont la chirurgie et la radiothérapie, mais parfois utilisée seule dans certaines tumeurs dites « chimiocurables ». Sur le modèle des leucémies, on avait espéré pouvoir découvrir progressivement des médicaments capables de guérir, l'une après l'autre, les diverses tumeurs solides : cet espoir s'est révélé illusoire et la chimiothérapie trouve son utilité majeure dans les cancers avancés, à un stade où la guérison n'est pas envisageable, mais où durée et qualité de la survie deviennent les objectifs de la prise en charge thérapeutique. Utilité majeure mais non unique, depuis que la chimiothérapie adjuvante et néo-adjuvante est venue apporter une importante contribution à la guérison des patients atteints de cancer.

La chimiothérapie est une modalité de traitement délicate, qui ne peut être prescrite que par des cliniciens spécialisés (oncologues), selon des protocoles de traitement précis, comprenant généralement plusieurs médicaments (polychimiothérapie) administrés en cycles successifs séparés de quelques semaines. Elle impose une surveillance attentive des patients en raison de la toxicité importante qu'elle est susceptible d'engendrer. Toutefois, le rôle du praticien de médecine générale est primordial pour la prise en charge des patients recevant une chimiothérapie, tant en ce qui concerne l'administration des médicaments, parfois réalisable au domicile du patient à partir du deuxième cycle, qu'en ce qui concerne la surveillance clinique et biologique de chaque cycle de traitement, sans parler du soutien psychologique au quotidien qu'il apporte au patient. Cette participation du médecin généraliste est conditionnée par la qualité de l'information qu'il doit recevoir du service spécialisé qui a prescrit la chimiothérapie.

Les médicaments anticancéreux mis à la disposition des oncologues sont nombreux et leurs mécanismes d'action variés. Une grande majorité d'entre eux ont pour but la destruction des cellules tumorales et sont,

par conséquent, toxiques pour toutes les cellules de l'organisme à renouvellement rapide. Ils sont appelés pour cela « médicaments cytotoxiques ». De nouvelles voies de recherche se sont ouvertes récemment pour élaborer des médicaments ciblant plus précisément les altérations des cellules malignes : médicaments à visée anti-oncogène, antimétastatique, anti-angiogène. Le champ des « thérapies ciblées » s'est ainsi ouvert il y a une dizaine d'années et il focalise les efforts des laboratoires académiques comme ceux de l'industrie pharmaceutique. Le nombre de molécules actuellement disponibles est encore faible mais plus de 600 essais thérapeutiques sont en cours avec ce type de molécules. Les thérapies ciblées apportent de nouvelles solutions au traitement des cancers mais, comme les médicaments cytotoxiques, ils ne sont qu'exceptionnellement responsables de guérisons : les cellules cancéreuses développent contre eux des mécanismes de résistance tout aussi efficaces que ceux qu'elles développent contre les médicaments cytotoxiques.

Une importante voie de recherche consiste à optimiser l'emploi des molécules dont nous disposons à l'heure actuelle. Il est possible de rechercher, au niveau de la tumeur et de l'hôte, des critères de prédiction d'efficacité permettant de limiter l'emploi de la chimiothérapie aux patients les plus susceptibles d'en tirer un bénéfice. Il est également possible de mieux adapter individuellement les doses et les modalités d'administration des médicaments anticancéreux afin d'améliorer la tolérance au traitement. Le meilleur exemple est celui de cette « vieille » molécule qu'est le 5-fluorouracile : utilisé dans les cancers colorectaux en injection rapide, il n'est suivi d'une réponse favorable que dans 10 % des cas ; utilisé en perfusion de longue durée, en association avec un composé stimulant son activité, il permet d'obtenir trois fois plus de réponses favorables...

Cet ouvrage se veut avant tout un manuel utilisable par les étudiants et les jeunes oncologues pour comprendre les objectifs et les moyens de la chimiothérapie des cancers ; j'ai voulu y introduire également un état de l'art concernant les principes du développement des médicaments anticancéreux, afin d'intéresser également les médecins de l'industrie pharmaceutique. La cancérologie est une discipline exemplaire

où les contacts entre les praticiens et les industriels ne sont pas entachés d'arrière-pensées commerciales : chaque médicament anticancéreux est unique et n'est superposable à aucun autre. Praticiens et industriels ont un métier bien distinct mais un objectif commun : la création d'outils thérapeutiques performants, l'optimisation de la prise en charge des patients, la mise à disposition de tous de l'innovation thérapeutique.

La cancérologie est en outre un domaine où biologistes et cliniciens se parlent et dépendent les uns des autres ; la compréhension des mécanismes d'action des médicaments est indispensable à leur prescription. Avec l'avènement de ces thérapies à visée étiologique que sont les « thérapies ciblées », l'exigence de compréhension s'est encore accrue. D'ici moins de dix ans, la pratique de la cancérologie passera obligatoirement par l'étude de la biologie moléculaire des cancers. Peut-être disposerons-nous un jour de ce que les biologistes des générations passées ont longuement cherché en vain : des biomarqueurs fiables permettant d'établir un diagnostic de cancer sur une simple prise de sang ? Il est certain, en revanche, que nous disposerons bientôt d'outils pronostiques et prédictifs qui permettront de décider de la mise en place d'une chimiothérapie, ainsi que du choix des médicaments qui auront les plus grandes chances d'être efficaces. On appelle parfois cette approche « médecine personnalisée », comme si toute la médecine depuis Hippocrate ne personnalisait les traitements proposés à chaque patient ; aurait-on oublié que nous traitons des patients, et non des tumeurs ? Je préfère le terme de « médecine de précision » à celui de « médecine personnalisée » pour évoquer cette utilisation de la biologie tumorale à la prescription des traitements, car il me paraît plus juste.

J'ai décidé de commencer cet ouvrage en présentant une histoire de la chimiothérapie, puis un ensemble de données sur la réalisation pratique d'une chimiothérapie, et ce choix pourra surprendre. Je voulais en fait aborder l'étude de la pharmacologie anticancéreuse par sa finalité, afin de présenter d'emblée le langage et les notions qui seront utilisés de façon récurrente tout au long de l'ouvrage. Avoir compris pourquoi les questions de dose et de temps sont si importantes dans la mise en place d'une chimiothérapie, par exemple, justifie plus loin le chapitre consacré à la pharmacocinétique. Expliquer dès le début de l'ouvrage ce que sont une chimiothérapie adjuvante et une chimiothérapie palliative, et

comment sont nées ces pratiques, évite d'y revenir de façon récurrente dans chacun des chapitres dédiés à une classe thérapeutique. J'espère que ces deux chapitres, superflus pour le spécialiste et de lecture aisée pour le non-spécialiste, donneront aux nouveaux venus dans la pratique de l'oncologie le désir de se plonger dans l'étude de la pharmacologie et de poursuivre la lecture de l'ouvrage entier...

Le lecteur ne trouvera pas dans cet ouvrage des protocoles ou des recettes pratiques ; il existe pour cela d'excellents ouvrages, comme le *Guide d'utilisation pratique des anticancéreux*, édité par le CNHIM (Centre national hospitalier d'information sur le médicament), sans parler du *Dictionnaire Vidal*. Il trouvera en revanche des principes, des concepts et des notions, qui lui permettront de tirer le meilleur parti des monographies sur les différentes familles de molécules. J'ai essayé d'expliquer chaque terme, de mettre à contribution chaque branche de la pharmacologie, de tirer parti de toutes les disciplines fondamentales : chimie, biochimie, biologie moléculaire, génétique, physiologie, anatomie pathologique, pour éclairer toutes les facettes des sciences et des techniques impliquées dans la conception, la réalisation et l'utilisation d'un médicament anticancéreux. Je n'ai pas souhaité alourdir mon propos en référencant chaque donnée, sauf dans quelques chapitres où cela s'imposait ; le lecteur trouvera après chaque chapitre une bibliographie succincte qui lui donnera les premières pistes d'approfondissement de son savoir. Il lui suffit de savoir naviguer dans *PubMed* pour aller au-delà.

Pour les médicaments cytotoxiques comme pour les thérapies ciblées, j'ai voulu asseoir les bases des mécanismes d'action et de résistance par des rappels de biologie cellulaire et moléculaire. J'ai essayé de les restreindre au minimum compatible avec la compréhension des données pharmacologiques. Le lecteur trouvera dans l'ouvrage du même éditeur « Signalisation cellulaire et cancer » des bases plus étoffées et je lui conseille de s'y référer sans réserve. J'ai repris dans cet ouvrage les schémas essentiels, simplifiés et actualisés, parus dans l'ouvrage précédent ; le lecteur s'apercevra que j'ai observé les mêmes règles graphiques qu'auparavant : la signification des flèches, les codes couleur, les symboles des organelles subcellulaires, etc., sont les mêmes ; on les trouvera dans la figure ci-dessous. Et j'ai suivi le même principe : que chaque schéma puisse être intégralement compris et reproduit par le lecteur.

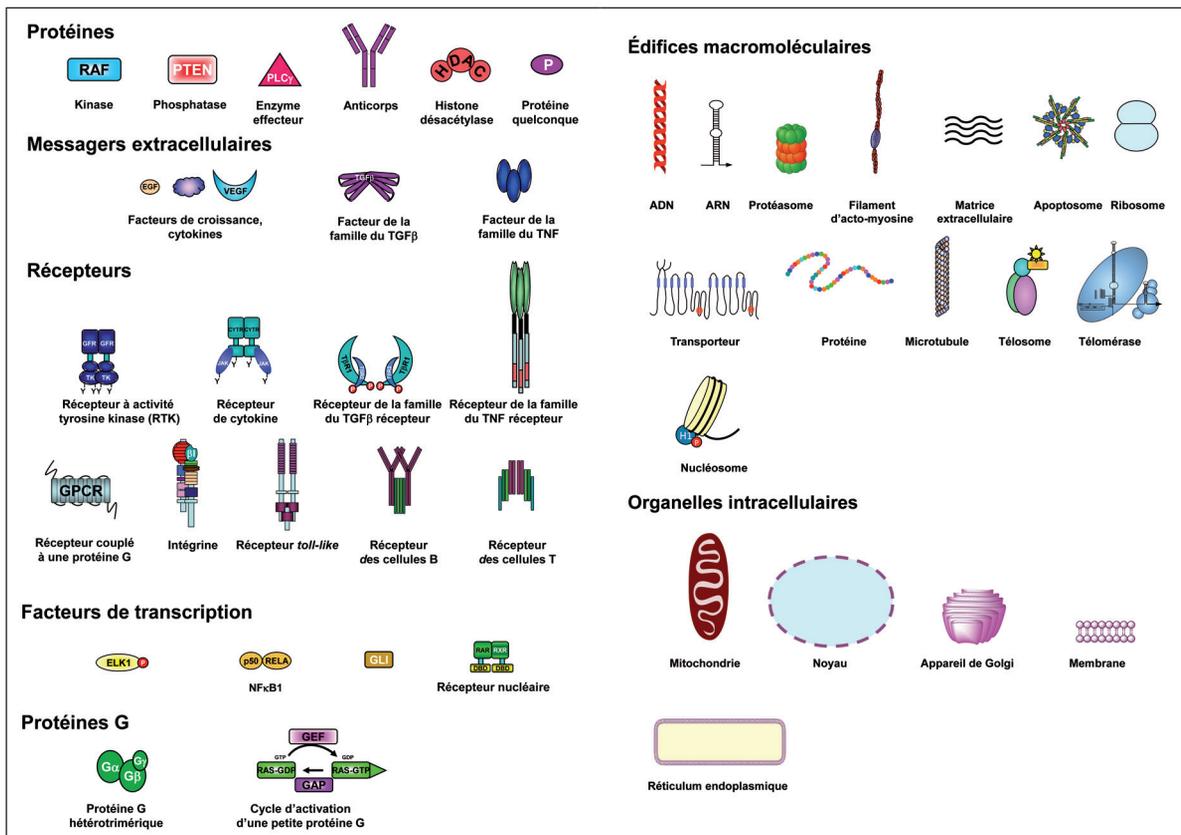


Fig. – Principales conventions graphiques.

J'ai renoncé volontairement, sauf exception, à présenter les splendides structures protéiques dans l'espace que permettent la cristallographie et la diffraction des rayons X. Le lecteur les trouvera dans les publications mentionnées.

Certains lecteurs trouveront peut-être qu'il y a dans ce livre un peu trop de chimie, un peu trop de formules... N'oublions pas que les médicaments sont des molécules définies, dont les interactions avec les protéines ou les acides nucléiques sont précises. Les formules sont destinées à *expliquer* les molécules. Certes, c'est de plus en plus souvent la génétique et la biologie de la signalisation cellulaire qui définissent les cibles pertinentes ; c'est le cristallographe qui établit sur ordinateur les interactions de molécules théoriques avec ces cibles ; mais c'est le chimiste organicien (sauf pour quelques médicaments comme les anticorps monoclonaux) qui devra synthétiser ces molécules au laboratoire, préparer le passage à la synthèse industrielle,

se « salir les mains » pour réaliser ce que d'autres ont conçu sur un écran d'ordinateur... Il y a autant de différence pour lui entre un éther et un ester qu'entre le jour et la nuit pour le commun des mortels...

J'ai évité autant que possible de citer dans le corps de l'ouvrage les grands noms de la discipline, scientifiques et médecins, en dehors bien sûr du chapitre historique. Si j'en nomme un, je devrai en nommer cent, et le cent unième oublié se sentira victime d'une injustice... Je n'ai pas cité non plus les noms des firmes pharmaceutiques qui ont développé jusqu'à la commercialisation les médicaments : d'abord par volonté de ne pas faire de publicité à l'une ou à l'autre ; ensuite parce que les firmes se rachètent entre elles de sorte qu'on ne sait plus à qui appartient tel ou tel produit ; enfin parce que les médicaments originaux cèdent vite la place à des génériques dont plusieurs firmes se partagent la commercialisation. J'ai préféré éviter la confusion.

12

Anticorps monoclonaux

Introduction

Les anticorps monoclonaux (mAb) ont déboulé dans notre paysage thérapeutique voici moins de 15 ans, et déjà la place qu'ils ont prise est considérable. En cancérologie, en rhumatologie, en transplantation, ils ont révolutionné les approches thérapeutiques et s'imposent comme des solutions tout aussi efficaces que les médicaments « classiques » que sont les petites molécules. Médicaments ciblés par excellence, les anticorps thérapeutiques sont à la charnière entre chimiothérapie et immunothérapie. Par certains côtés, ils ne diffèrent pas des autres médicaments : ils ont une cible qui est souvent, en cancérologie, un facteur de croissance ou un récepteur de facteur de croissance ; ils inhibent la fonction de ce facteur de croissance ou de ce récepteur et combattent ainsi le message de prolifération en provoquant un arrêt de la croissance ou une régression tumorale. Par d'autres côtés, leur mécanisme d'action diffère parfois profondément de ce schéma pharmacologique général : ils peuvent mettre en jeu les défenses naturelles de l'organisme en « présentant » aux cellules tueuses les cellules tumorales à combattre et à détruire. Ce double aspect de leur action, immunothérapie passive et immunothérapie active, est souvent difficile à départager de façon certaine. Un troisième aspect concerne une fonction de ciblage de molécules cytotoxiques, et ces immunoconjugués en plein essor tentent de réaliser le vieux rêve du *magic bullet* de Paul Ehrlich.

Les différents anticorps monoclonaux thérapeutiques seront présentés à leur juste place, dans la cinquième partie réservée à l'étude des thérapies ciblées. Dans ce chapitre, il sera question de quelques problèmes généraux, afin de préciser comment ils sont obtenus, pourquoi ils ont été « humanisés », quelles sont les modalités de leur interaction avec leur cible, par quels mécanismes ils stimulent les défenses de l'organisme. Rappelons que les anticorps non monoclonaux sont entrés en thérapeutique voilà bien longtemps, et que l'Institut Pasteur a entretenu pendant

des décennies une écurie de chevaux immunisés dont le sérum était utilisé pour combattre infections et intoxications...

Conception et structure des anticorps monoclonaux

Immunoglobulines

Structure générale

Molécules clés de l'immunité humorale, les immunoglobulines sont produites par les cellules B et sont caractérisées par leur capacité à se lier à des déterminants antigéniques, protéines, fragments de protéines ou structures non protéiques (glucides, glycolipides), manifestant ainsi leur propriété d'anticorps. Les immunoglobulines (Ig) présentent une très grande variabilité : (1) idiotypique, associée à leur spécificité d'anticorps ; (2) allotypique, associée à des marqueurs génétiques de l'individu ou de groupes d'individus ; (3) isotypique, associée aux caractéristiques de l'espèce. Elles sont subdivisées en cinq classes : IgG, IgA, IgM, IgD, IgE, produites par tous les individus. Les IgG, les plus courantes, servent de modèle pour leur description et comprennent 4 sous-classes : IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Les IgG sont des hétérodimères constitués de deux chaînes « lourdes » H de 53 kDa (440 acides aminés) et de deux chaînes « légères » L de 25 kDa (220 acides aminés) (figure 12-1). Leur structure générale adopte la forme d'un Y et une digestion protéolytique ménagée conduit à la séparation en un fragment Fc (pour cristallisable) et deux fragments Fab (pour *antigen binding*). Les deux chaînes lourdes sont associées entre elles par des ponts disulfure localisés au niveau d'une région charnière flexible, les chaînes légères sont associées aux chaînes lourdes par un pont disulfure et des liaisons non covalentes. Chaque portion Fab contient une chaîne L et la région N-terminale d'une chaîne H ; la portion Fc contient les régions C-terminales de deux chaînes H.

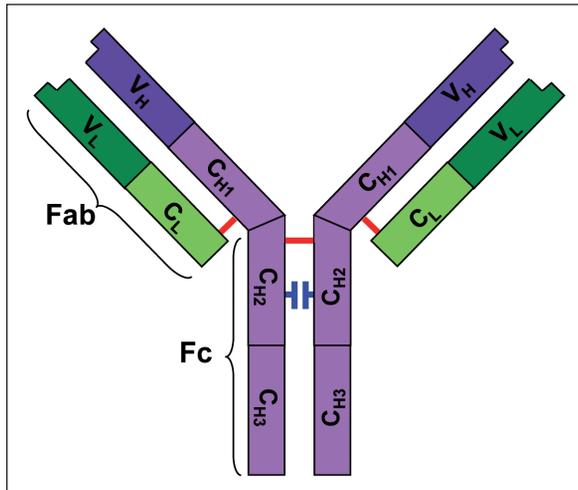


Figure 12-1. Structure générale des immunoglobulines. Les chaînes lourdes H sont colorées en mauve, les chaînes légères L en vert. Les domaines constants C sont plus clairs que les domaines variables V. Les ponts disulfure sont matérialisés par des traits rouges.

Les chaînes lourdes des IgG sont appelées chaînes γ et elles sont identiques dans une même molécule d'IgG ; elles contiennent une région C-terminale constante C_H , très conservée dans toutes les molécules d'une sous-classe d'IgG, et une région N-terminale variable V_H , longue de 110 acides aminés, dont la séquence varie énormément d'une molécule à l'autre. À l'intérieur de cette séquence V_H alternent des segments peu variables constituant une charpente (*framework*) et des segments hypervariables ou CDR (*complementary determining regions*) qui permettent la spécificité de la fonction anticorps. La région C_H est subdivisée en trois domaines : C_{H1} , qui appartient à la portion Fd, et C_{H2} et C_{H3} qui appartiennent à la portion Fc. Le domaine C_{H2} des chaînes γ porte une copule glucidique contenant plusieurs types d'oses ou d'osamines (galactose, mannose, fucose, galactosamine) liés entre eux de façon spécifique. Les chaînes légères sont de deux types, κ et λ , une molécule d'IgG comportant un seul type de chaîne L. Elles comportent également une région C-terminale C_L constante et une région N-terminale V_L variable.

Il existe, outre les ponts disulfure entre chaînes, des ponts disulfure intracaténaux entre des résidus cystéine localisés au niveau des extrémités des domaines C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} , C_L , V_H et V_L . Il en résulte des boucles caractéristiques de ces domaines. Les domaines homologues des constituants d'une molécule d'IgG s'associent entre eux en groupes globulaires, de sorte

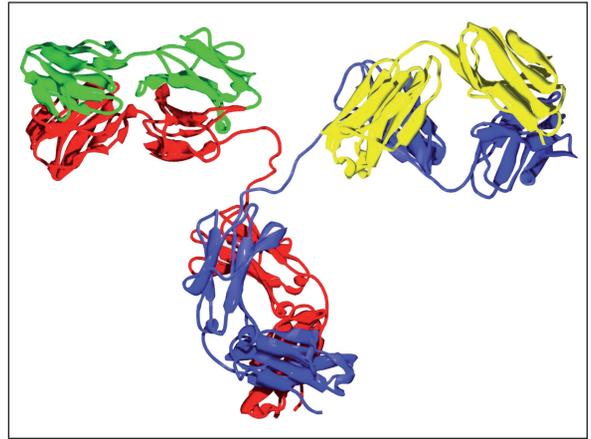


Figure 12-2. Structure tridimensionnelle des immunoglobulines, montrant les groupes globulaires résultant de l'association des domaines homologues. Les chaînes lourdes sont, l'une rouge, l'autre bleue ; les chaînes légères sont l'une verte, l'autre jaune. Figure extraite de l'article *Antibody* de Wikipedia et libre de droits.

qu'il existe six groupes globulaires dans une molécule d'IgG (figure 12-2), deux au niveau de la portion Fc (C_{H2} - C_{H2} et C_{H3} - C_{H3}) et deux au niveau de chaque portion Fab (C_{H1} - C_L et V_H - V_L).

La structure des autres classes d'Ig est également basée sur l'association de chaînes lourdes de divers types et de chaînes légères κ et λ . Les IgM ont des chaînes lourdes μ , les IgA, IgD et IgE des chaînes lourdes α , δ et ϵ . Les diverses chaînes lourdes diffèrent par leur taille et le nombre de leurs domaines. Les IgM sont constituées par l'association de cinq unités faites chacune de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères, les IgA par l'association de deux unités. Ces pentamères ou ces dimères sont associés entre eux par une chaîne J (*joining*).

Toutes les Ig ne sont pas des anticorps : certaines sont des protéines membranaires ayant une fonction de récepteur, comme les *clusters of differentiation* CD4 et CD8 ou les *T-cell receptors* (TCR) et *B-cell receptors* (BCR) qui sont des produits d'épissage alternatif d'un exon codant un domaine transmembranaire, des protéines d'adhésion comme les ICAM (*immunoglobulin cell-adhesion molecules*). De nombreuses protéines portent des domaines de type immunoglobuline, faits de feuillets β antiparallèles respectant une topologie particulière : c'est le cas, par exemple, des récepteurs à activité tyrosine kinase de la famille des VEGFR.

Variabilité idiotypique

Chaque molécule d'Ig porte une spécificité qui lui permet de reconnaître de façon spécifique un

déterminant antigénique déterminé, que l'on appelle un *épitope*, qui est un domaine protéique très précis, parfois un sucre. Cette spécificité est portée par les parties variables V_H et V_L des portions Fab des Ig. Il existe des millions d'antigènes possibles, auquel répond un même nombre théorique d'anticorps, chacun reconnaissant de façon spécifique un antigène. On pensait, aux débuts de l'immunologie, que l'anticorps venait « se mouler » sur l'antigène pour se lier à lui comme sur une matrice (*template*) : or il n'est pas concevable que notre génome renferme l'information nécessaire au codage de millions d'Ig différentes. La diversité des anticorps est due à l'existence de réarrangements géniques survenant au cours de la différenciation des précurseurs des lymphocytes B. Avant tout contact avec un antigène, il

existe chez chaque individu des millions de lymphocytes B différents, chacun exprimant un BCR distinct qui est sélectionné lorsque le lymphocyte rencontre un antigène susceptible d'être reconnu par l'Ig correspondante.

Le mécanisme du réarrangement des gènes d'immunoglobulines est maintenant bien connu ; il est très différent du mécanisme d'épissage alternatif qui aboutit, lui aussi, à la production de protéines distinctes à partir d'un même gène. Les régions C_H et C_L sont codées par un seul gène par classe et sous-classe d'Ig : il existe ainsi neuf gènes pour la région C des chaînes lourdes (γ , μ , α , δ et ϵ), et deux gènes pour celle des chaînes légères (κ et λ). Les régions V_H et V_L sont codées par plusieurs gènes appartenant à trois types différents, V (*variable*), J (*junction*) et, pour les seules chaînes

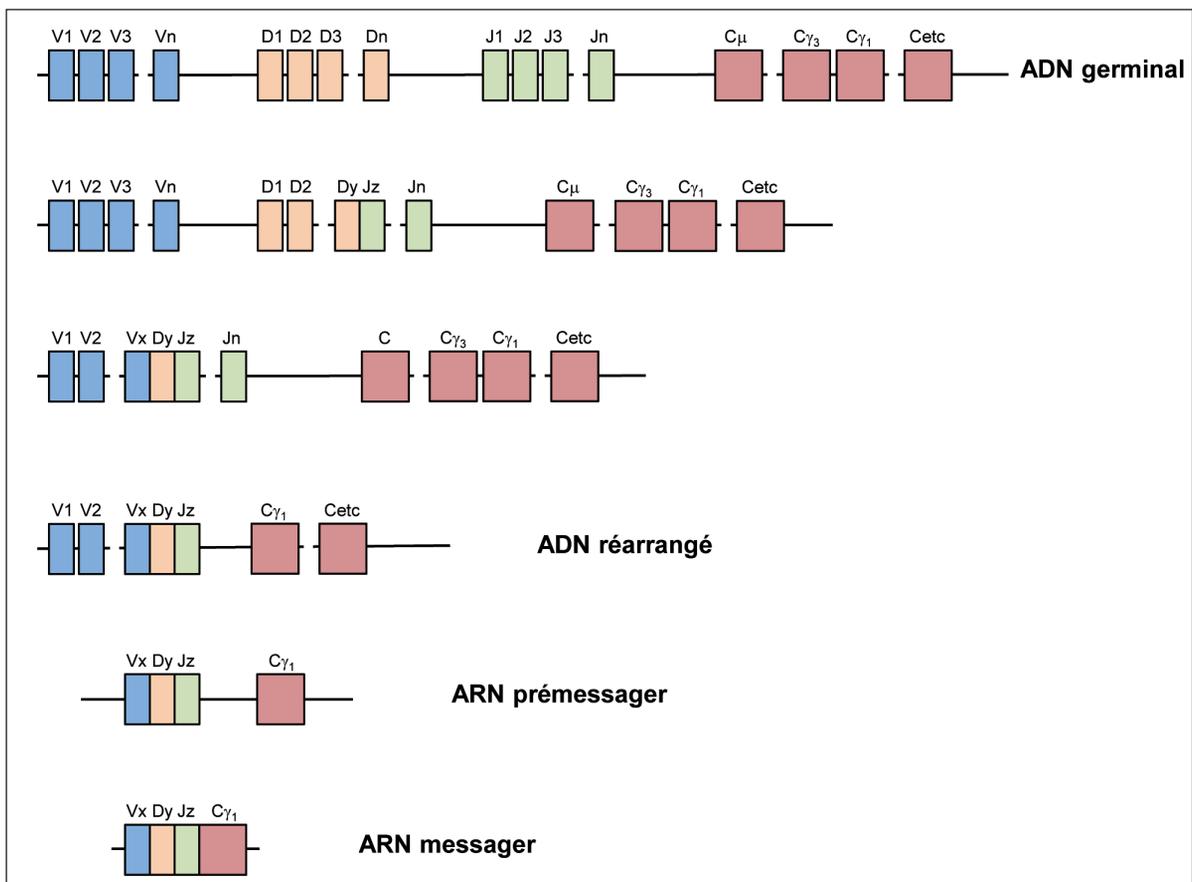


Figure 12-3. Réarrangement des gènes d'immunoglobulines dans les lymphocytes B. L'exemple donné est celui d'une chaîne lourde d'IgG1 ; pour les chaînes légères, il n'y a pas de gènes D et il existe un seul gène C, mais le processus est similaire. Un premier réarrangement permet de joindre un gène D et un gène J, les séquences intermédiaires étant éliminées ; un second réarrangement permet de joindre un gène V au bloc DJ, les séquences intermédiaires étant éliminées. Un troisième réarrangement permet d'éliminer les gènes des chaînes lourdes en amont de celle correspondant à la classe qui doit être produite. La transcription fournit ensuite un ARN pré-messager comportant des introns ; cet ARN est épissé pour donner l'ARN messager mature qui sera traduit en protéine dans le cytoplasme.

lourdes, D (*diversity*). Lors de la différenciation des lymphocytes B, il se produit dans chacun d'entre eux des réarrangements associant un gène de chaque type, qui sera transcrit en ARN messager, lui-même épissé et traduit en protéine (figure 12-3). Il faut associer un gène V, un gène J et un gène D pour constituer un gène de région variable de chaîne lourde, un gène V et un gène J pour un gène de région variable de chaîne légère. Il existe 38 à 40 gènes V, 6 gènes J et 23 gènes D pour les chaînes lourdes, ce qui permet de coder environ 6 000 chaînes lourdes distinctes pour chaque classe d'immunoglobuline ; ainsi que 30 à 35 gènes V et 4 à 5 gènes J pour les chaînes légères, ce qui permet de coder environ 150 chaînes légères κ et autant de chaînes λ . Comme pour leurs parties variables, les parties constantes des chaînes lourdes sont produites par réarrangement des gènes C (figure 12-3), qui correspond à ce que l'on appelle la *commutation* d'un type de chaîne lourde à un autre.

Il existe ainsi près de 10^6 Ig possibles de chaque classe après assemblage d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère, et un lymphocyte B donné n'en produit qu'une seule. Ce nombre est en fait au moins mille fois supérieur du fait de divers mécanismes supplémentaires comme l'existence de plusieurs cadres de lecture des gènes D, et l'existence du phénomène d'hypermutation qui vient modifier les gènes réarrangés V-D-J (chaînes lourdes) ou V-J (chaînes légères) permet de multiplier ce nombre par un autre facteur 1000. Ce sont ainsi 10^{12} immunoglobulines différentes que l'on peut rencontrer, plus que de lymphocytes B présents chez un individu et elles peuvent ainsi « répondre » aux millions d'antigènes connus. Les gènes des chaînes lourdes sont localisés au niveau chromosomique en 14q32, ceux des chaînes κ en 2p11 et ceux des chaînes λ en 22q11. Il s'agit de familles multigéniques, chaque type de gène dérivant d'un gène ancestral et ayant acquis ensuite de multiples variations de séquence.

Anticorps

La stimulation des lymphocytes B par un antigène donné permet de sélectionner ceux qui produisent les Ig les mieux adaptées à sa reconnaissance afin de se lier à eux. Lorsque cette sélection est faite par injection à l'animal d'un antigène, une multitude de lymphocytes différents le reconnaissent, avec plus ou moins d'affinité ; les anticorps qu'ils sécrètent dans le sang sont multiples et même leur purification ne permet

pas d'isoler une espèce moléculaire d'anticorps particulière. Les anticorps obtenus sont dits polyclonaux. Il fut imaginé au cours des années 1970 de fusionner des cellules de myélome murin avec des lymphocytes isolés de la rate d'une souris immunisée contre un antigène donné, de façon à obtenir un *hybridome*. Les cellules de myélome sont utilisées d'une part parce qu'elles permettent aux lymphocytes de souris d'être immortalisés, et d'autre part parce qu'elles sont auxotrophes pour certains nucléotides : dans un milieu sans ces nucléotides, seules celles qui ont fusionné avec un lymphocyte de souris peuvent proliférer indéfiniment. Il suffit alors de cloner les cellules hybrides pour obtenir une grande variété de clones différents, chacun produisant un anticorps distinct dit *monoclonal* (mAb). La sélection de l'anticorps le plus intéressant sur le plan de ses fonctions de reconnaissance de l'antigène peut alors intervenir, grâce à des techniques de plus en plus sophistiquées comme le *phage display*. L'étape de purification de l'anticorps pour en faire un outil diagnostique ou thérapeutique doit bien sûr être menée de façon rigoureuse, en respectant les principes des bonnes pratiques de fabrication (*good manufacturing practices*). Ces anticorps monoclonaux de souris sont d'excellents outils, mais leurs propriétés immunogènes pour l'homme n'en font pas des médicaments idéaux.

Une étape fut franchie lorsqu'il a été possible, dans les années 1980, d'utiliser le génie génétique pour obtenir des mAb recombinants, après clonage du gène de l'hybridome choisi dans des vecteurs d'expression eucaryotes. Cela permet de faire produire l'anticorps par des cellules en culture plus prolifères et stables que les hybridomes, comme la lignée de hamster chinois CHO. Cela permet également de manipuler la séquence génique par mutagenèse dirigée, de créer des banques d'anticorps présentant des différences précises dans leur séquence d'acides aminés, et de faire varier la spécificité des anticorps initialement obtenus. Il a été ainsi possible d'obtenir des anticorps chimériques homme-souris, en fusionnant l'ADN codant la partie constante des Ig humaines avec l'ADN codant la partie variable (reconnaissant et se liant à l'épitope) de l'Ig de souris. La course vers des anticorps encore plus humains et encore moins murins a permis ensuite d'obtenir, par greffage de régions complémentaires (*complementarity-determining region grafting*), des anticorps dits humanisés, où ne subsistent plus que les parties hypervariables des Ig de

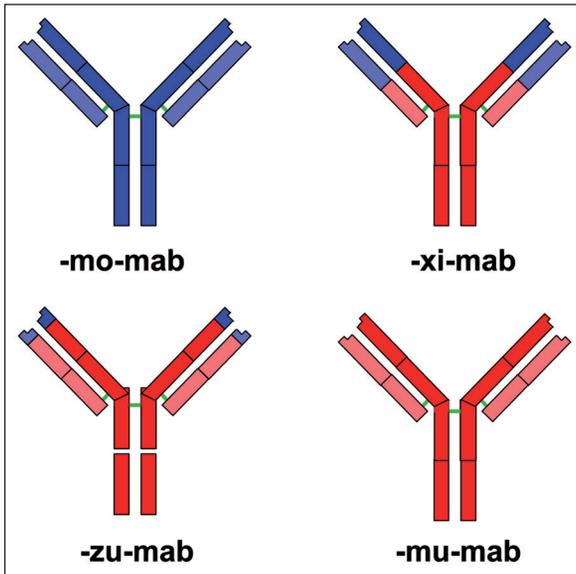


Figure 12-4. Des anticorps murins aux anticorps humains : les parties codées par les gènes de souris sont représentés en bleu, celles codées par des gènes humains en rouge. -mo-mab : anticorps entièrement murin ; -xi-mab : anticorps chimérique ; -zu-mab : anticorps humanisé ; -mu-mab : anticorps entièrement humain.

souris, et par d'autres techniques des anticorps entièrement humains (figure 12-4). Toutefois, les anticorps chimériques restent bien adaptés à une administration à l'homme.

La liaison Ag-Ac entre l'épitope de l'antigène et le *paratope* correspondant de l'anticorps est un ensemble d'interactions non covalentes relativement flexibles et réversibles, qui relève du schéma général des interactions protéine-protéine et met en jeu des liaisons hydrogène, des liaisons ioniques et des forces de van der Waals, en particulier des interactions hydrophobes. L'affinité peut varier entre 10^5 et 10^9 M^{-1} . Il faut toutefois prendre en compte une affinité fonctionnelle, autrefois dénommée *avidité*, liée à la bivalence des anticorps, qui renforce de façon importante l'affinité primaire entre les deux partenaires. Cette affinité antigène-anticorps n'est pas supérieure à l'affinité facteur de croissance-récepteur. Il est donc envisageable, à l'aide de techniques de recombinaison génétique, de remplacer des domaines Fab par des domaines issus de récepteurs dans l'ingénierie biochimique des anticorps.

Le criblage des anticorps obtenus lors d'une immunisation particulière est particulièrement draconien ; en dehors des critères de reconnaissance de l'antigène par l'anticorps, il est nécessaire de tenir compte de toute

une série de paramètres et de les optimiser éventuellement : séquence de l'ADNc et conformité de la masse moléculaire de l'anticorps avec la séquence ; charge nette de l'anticorps, afin d'éliminer ceux qui ont un point isoélectrique éloigné de la neutralité ; degré d'hydrophobie global afin de ne conserver que les anticorps qui sont suffisamment hydrophiles, pour des raisons liées à leur solubilité ; degré et nature de la glycosylation, etc.

Activité des anticorps monoclonaux

Nous disposons en cancérologie d'un immense réservoir d'épitopes susceptibles de servir de cibles aux anticorps thérapeutiques, en raison de la multiplicité des altérations quantitatives et qualitatives des produits d'oncogènes, même s'il faut se limiter à ceux exprimés sur la membrane de la cellule tumorale ou dans l'environnement tumoral, en raison du fait que la taille des anticorps leur interdit l'accès aux antigènes intracellulaires. Ces antigènes potentiels peuvent être spécifiques des cellules tumorales, en raison par exemple de réarrangements oncogéniques donnant naissance à des protéines chimériques, ou encore de mutations susceptibles de constituer des épitopes discernables ; ils sont plus souvent peu spécifiques de la tumeur, cette dernière exprimant simplement une oncoprotéine à un taux plus élevé que les cellules normales ; ils n'ont enfin parfois aucune spécificité vis-à-vis de la tumeur, mais sont spécifiques du lignage cellulaire d'où est issue la tumeur. Il n'est pas possible de donner une liste exhaustive des anticorps monoclonaux développés dans le cadre du traitement des cancers ou de certaines manifestations des cancers. Dans chacun des chapitres de la 5^e partie seront présentés les anticorps développés viv-à-vis des diverses cibles possibles.

La nomenclature des anticorps thérapeutiques suit quelques règles simples qui permettent de repérer leur origine et le type de cible qu'ils reconnaissent. Leur nom se termine par le suffixe -mab pour *monoclonal antibody* ; l'avant-dernier élément désigne leur origine : -mo- pour les anticorps de souris, -xi- pour les anticorps chimériques, -zu- pour les anticorps humanisés, -mu- pour les anticorps humains. Enfin, l'antépénultième élément désigne le type de cible : -tu- pour les cibles tumorales, -ci- pour celles du système vasculaire (circulation), -li- pour celles du système immunitaire, etc. On comprend ainsi que le bevacizu-

mab est un anticorps thérapeutique humanisé dirigé contre une protéine de l'angiogenèse (VEGFA), que le cetuximab est un anticorps thérapeutique chimérique dirigé contre une cible tumorale (EGFR) ou que l'ipilimumab est un anticorps humain dirigé contre une protéine immunitaire (CTLA4).

Activité directement liée à la portion Fab des anticorps

Ciblage de protéines circulantes

Des protéines circulantes peuvent faire l'objet d'un ciblage par un mAb thérapeutique ; le cas le plus connu est le bevacizumab, dont la cible est le VEGFA, le principal facteur de croissance impliqué dans l'angiogenèse (cf. Chapitre 27). L'épitope reconnu par le bevacizumab est précisément le domaine assurant la reconnaissance et la fixation du facteur de croissance sur ses récepteurs, VEGFR1 (*FLT1*) et VEGFR2 (*KDR*). La fixation du bevacizumab sur le VEGFA prive ainsi le facteur de croissance de toute action activatrice de ses récepteurs. Des anticorps dirigés contre l'angiopoïétine ANG2 ont également été développés (cf. Chapitre 27). Certains facteurs de croissance agissant sur les récepteurs à activité tyrosine kinase peuvent également être ciblés par des anticorps (cf. Chapitre 21) : l'*hepatocyte growth factor* (HGF), ligand de MET, ou encore les *insulin-like growth factors*, IGF1 et IGF2. D'autres ligands ciblés par des anticorps thérapeutiques peuvent être cités : l'IL6, une cytokine activatrice de la voie JAK-STAT dans le myélome multiple (cf. Chapitre 21) ; le facteur RANKL impliqué dans les métastases osseuses (denosumab) ; le TGF β (fresolimumab, lerdelimumab, metelimumab) (cf. Chapitre 26).

Ciblage de récepteurs des cellules tumorales

De nombreuses protéines exprimées sur la surface de la cellule ont une fonction de récepteur de signaux extracellulaires. Ces récepteurs sont souvent altérés, de façon quantitative ou qualitative, dans les cellules tumorales et leur ciblage par des mAb est *a priori* pertinent, qu'il s'agisse de récepteurs à activité tyrosine kinase (EGFR, ERBB2 et 3, MET, IGF1R, FGFR3, etc.), ou de ceux impliqués dans les d'autres voies de signalisation de la prolifération (cytokines activant JAK/STAT, TGF β , Wnt, Notch, Hedgehog, CXCR4, etc.) ou de la mort cellulaire (TNF et ses analogues). Les fonctions, les ligands, les domaines et les partenaires

du récepteur que l'on cherche à atteindre doivent être identifiés de façon précise avant de sélectionner des anticorps le prenant pour cible, et pouvant exercer des fonctions antagoniste ou agoniste. Plusieurs stratégies sont envisageables pour inhiber les fonctions normales d'un récepteur : masquage du site de liaison au ligand, masquage du site de dimérisation et d'activation, activation de la dégradation par internalisation, etc. Deux exemples ayant abouti à des anticorps utilisés en pratique clinique, dirigés contre les récepteurs à activité tyrosine kinase EGFR et ERBB2, illustrent ces stratégies.

Le cetuximab reconnaît sur l'EGFR (cf. Chapitre 21) un épitope situé sur son domaine extracellulaire III, en partie commun avec le site de liaison de ses ligands, comme l'EGF et le TGF α . Le cetuximab, ayant une affinité pour l'EGFR supérieure à celle de l'EGF et du TGF α , agit comme un inhibiteur compétitif de ces ligands et est capable de les déplacer. Cet antagonisme empêche la dimérisation de l'EGFR et les processus qui en découlent, l'activation des voies des MAP kinases et de la PI3 kinase. En dehors du panitumumab, qui reconnaît également un épitope du domaine III de l'EGFR, d'autres mAb ont été développés, en particulier le ch-806, qui reconnaît une boucle du domaine II portant un glucide, et serait spécifique de l'EGFR tumoral, généralement immature et riche en mannose, alors que l'EGFR des cellules normales ne serait pas reconnu avec la même affinité. Cet anticorps reconnaît également la forme mutante vIII de l'EGFR, qui est amputée de la majeure partie extracellulaire.

Dans le cas du « récepteur » ERBB2, qui n'a pas de ligand et se trouve en permanence à l'état préactivé (cf. Chapitre 21), le trastuzumab, développé dans les cancers du sein et d'autres cancers surexprimant ce récepteur, reconnaît un épitope proche de la membrane, dans le domaine IV. Sa liaison au récepteur perturbe son homodimérisation, due à la présence d'un grand nombre de molécules, et aboutit à un dimère non fonctionnel ; il active également l'endocytose du complexe antigène-anticorps, diminuant ainsi la disponibilité en récepteur. Un autre anticorps, le pertuzumab, est dirigé contre le domaine II qui contient le bras de dimérisation (figure 12-5), et inhibe ainsi la dimérisation du récepteur avec ses partenaires ERBB1, B3 et B4. Les deux anticorps ont une action synergique *in vivo* du fait de leur complémentarité mécanique.

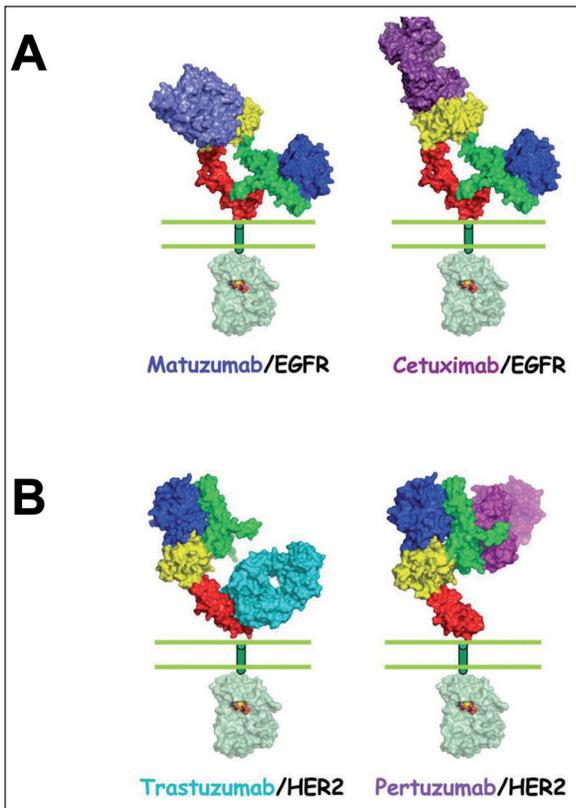


Figure 12-5. Localisation des épitopes reconnus par les anticorps anti-EGFR (A) et anti-ERBB2 (B). Ces modèles moléculaires obtenus après diffraction des rayons X de la partie extracellulaire cristallisée de l'EGFR et de ERBB2 montrent la localisation des épitopes reconnus par le matuzumab et le cetuximab au niveau du domaine III de l'EGFR, et du trastuzumab et du pertuzumab au niveau du domaine IV et du domaine II respectivement. Extrait de Leahy, *Cancer Cell* 2008; 13: 291-3, avec la permission de l'éditeur.

Le ciblage des autres récepteurs à activité tyrosine kinase n'est pas aussi avancé que celui des récepteurs de la famille de l'EGF, mais sur les 60 récepteurs de ce type, un bon nombre est impliqué dans l'oncogénèse et les recherches sont actives. Il en est de même pour les récepteurs sans activité tyrosine kinase, pour lesquels la génération de mAb et leur évaluation pré-clinique sont en cours. Il existe un grand nombre de cibles potentielles dans les diverses voies de signalisation (une trentaine de récepteurs de cytokines, 24 intégrines, 12 récepteurs de la voie du TGF β , 10 récepteurs Frizzled, 4 récepteurs Notch, 2 récepteurs Patched, 28 récepteurs de la superfamille du récepteur du TNF, etc.) qui tous ne sont pas impliqués dans l'oncogénèse, mais dont une partie importante mérite l'attention du pharmacologue.

Le ciblage des intégrines par des mAb concerne à la fois les intégrines tumorales comme $\alpha_v\beta_3$ et les intégrines stromales impliquées dans l'angiogénèse. Plusieurs mAb anti-intégrines ont été développés en dehors de la cancérologie (*cf.* Chapitre 26), en raison de la pléiotropie de ces molécules : maladie de Crohn, polyarthrite rhumatoïde, thrombose, sclérose en plaques, etc. Les intégrines pertinentes en cancérologie sont les intégrines tumorales $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_5\beta_1$, qui sont aussi endothéliales, de sorte qu'il est difficile de déterminer si l'action des mAb anti-intégrines est antitumorale ou anti-angiogène. La génération d'anticorps peut se concevoir au niveau d'épitopes caractéristiques de telle ou telle chaîne ou au niveau d'épitopes de structure tertiaire, le mAb ne reconnaissant que l'assemblage de deux chaînes, si possible en leur état activé.

À l'inverse des récepteurs de facteurs de croissance, certains récepteurs comme ceux de la famille des récepteurs du TNF induisent la mort cellulaire par apoptose selon la voie extrinsèque lorsqu'ils sont activés par leur ligand (*cf.* Chapitre 24). Un analogue du TNF appelé TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) active ainsi des récepteurs qui sont surexprimés dans de nombreuses tumeurs mais généralement peu dans les cellules normales ; le ciblage de ces récepteurs, TRAILR1 (DR4) et TRAILR2 (DR5) à l'aide d'anticorps « agonistes » qui miment les effets du ligand et induisent son activation est donc pertinent. Plusieurs d'entre eux sont en cours de développement, comme le mapatumumab.

Ciblage de protéines membranaires tumorales diverses

De nombreuses protéines membranaires n'ont pas de fonction de récepteur et peuvent toutefois représenter d'excellentes cibles pour la thérapeutique anticancéreuse : des protéines membranaires sont souvent surexprimées dans des tumeurs et peu exprimées dans les tissus sains, pour des raisons pas toujours élucidées. Ce rôle d'antigène tumoral peut servir d'une part à élaborer des thérapies immunologiques actives (vaccination, *cf.* Chapitre 30), et d'autre part à concevoir une immunothérapie passive par mAb. Parmi les multiples possibilités explorées, on peut citer des protéines d'adhésion (*cf.* Chapitre 26), des protéines matricielles, des mucines, quelques enzymes comme l'anhydrase carbonique IX (CA9) ou la phosphatase acide

prostatique (PAP), des transporteurs comme celui des folates (FOLR1), etc. (cf. Chapitre 29).

À ces protéines, on peut adjoindre des lipides tumoraux qui peuvent servir d'épitopes pour la génération de mAb ; ce sont les gangliosides GM3, GD3 et GD2, ainsi que la phosphatidylsérine, normalement non exposée à la surface des membranes des cellules normales, mais qui peut l'être dans les cellules tumorales. Dans d'autres cas, des protéines membranaires n'ont pas de surexpression particulière dans les cellules tumorales, mais elles sont caractéristiques du lignage cellulaire d'où provient la tumeur ; on peut alors envisager la destruction du lignage sans conséquences dommageables pour l'organisme. On peut ainsi synthétiser des anticorps dirigés contre des clusters de différenciation (CD) caractéristiques de lignages hématopoïétiques (cf. Chapitre 30) ; c'est ainsi que le CD20, marqueur des cellules B, est la cible du rituximab et d'autres mAb actifs dans les lymphomes B et les LLC ; le CD33, marqueur des cellules de la lignée myéloïde, est la cible du gemtuzumab, développé dans les LAM. Les fonctions physiologiques de ces protéines membranaires sont mal connues (le CD20 pourrait être un canal calcique) mais leur interaction avec un anticorps est à l'origine d'une signalisation membranaire aboutissant à l'induction de l'apoptose.

Ciblage de protéines membranaires de cellules non tumorales

Les cibles stromales du microenvironnement tumoral pertinentes pour le traitement du cancer peuvent se trouver au niveau de cellules endothéliales et participer ainsi à l'angiogenèse. C'est ainsi que, parallèlement au développement des inhibiteurs de RTK dirigés contre les récepteurs du VEGF, des mAb dirigés contre ces mêmes récepteurs ont été recherchés et l'un d'eux devrait être bientôt commercialisé (cf. Chapitre 27). Les mAb anti-intégrines entrent également dans cette catégorie d'anticorps anti-angiogéniques. Dans un domaine distinct de celui de l'angiogenèse, des mAb agonistes du récepteur de l'érythropoïétine comme le vapaliximab, pourraient remplacer l'érythropoïétine dans le traitement de l'anémie des patients atteints de cancer. Des anticorps dirigés contre l'hepcidine (LY-2787106) et la myostatine (LY-2495655) ont été développés pour lutter contre l'anémie et la cachexie des cancéreux.

Ciblage de protéines membranaires responsables de l'immunité antitumorale

Les lymphocytes T sont responsables d'une importante composante de l'immunité antitumorale (cf. Chapitre 30). Il existe à leur surface des corécepteurs possédant un effet inhibiteur : ce sont surtout CTLA4 (*cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*) et PD1 (*programmed cell death 1*). Ces récepteurs ont un effet immunosuppresseur en bloquant la réception des molécules stimulatrices ou en inhibant les signaux d'activation. Le blocage de ces corécepteurs permet de réactiver les lymphocytes T antitumoraux. Cette approche est efficace dans le traitement du mélanome et l'ipilimumab (mAb anti-CTLA4) est maintenant sur le marché. Des mAb anti-PD1 sont en phase d'essai clinique, dont le plus avancé est le nivolumab. Il est également possible de cibler les ligands de ces récepteurs accessoires (protéines B7), portés par les cellules présentatrices d'antigènes : PDL1, CD80, etc. ; plusieurs anticorps sont en développement (cf. Chapitre 30).

Un autre ciblage des lymphocytes T peut être réalisé par action sur des ligands de la superfamille du TNF (TNFSF) et des récepteurs correspondants (TNFRSF) impliqués, non dans la mort cellulaire comme le TNF, TRAIL ou FAS, mais dans l'immunité antitumorale. Plusieurs anticorps sont ainsi en développement clinique (cf. Chapitre 30).

Activités liées à la portion Fc des anticorps

La fonction de reconnaissance et de liaison des antigènes par la portion Fab n'est pas seule en cause dans l'activité des anticorps thérapeutiques : la portion Fc peut jouer un rôle important, conditionné au départ par la reconnaissance préalable de l'antigène par la portion Fab. La portion Fc est en effet reconnue par certains récepteurs membranaires qui modifient sa distribution dans l'organisme et peuvent susciter des réactions immunitaires que l'on appelle l'ADCC (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*) et la CDC (*complement-dependent cytotoxicity*).

Cytotoxicité cellulaire dépendante de l'anticorps (ADCC)

Les anticorps ayant une chaîne lourde de type $\gamma 1$ ou $\gamma 3$ (IgG1 ou IgG3) présentent, au niveau de leur partie C-terminale (portion Fc), un site

de reconnaissance par des récepteurs de cellules immunitaires diverses (figure 12-6) : lymphocytes B, monocytes, macrophages, granulocytes, mastocytes, et surtout cellules NK (*natural killer*), dont certaines sont capables de détruire les cellules auxquelles elles se fixent. Il existe six récepteurs différents, à la structure très proche, répartis en trois sous-familles, I (CD64), II (CD32) et III (CD16) : on les appelle Fc γ RI, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, Fc γ RIIC, Fc γ RIIIA et Fc γ RIIIB, les gènes correspondants portant le nom de *FCGR1*, *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A*, *FCGR3B*. Ce mécanisme intervient à des degrés divers dans l'activité des mAb, et a été particulièrement documenté pour le rituximab et l'alemtuzumab, mais il intervient également pour le cetuximab et le trastuzumab. C'est essentiellement le récepteur Fc γ RIIIA, caractéristique des lymphocytes NK, qui semble en cause. Certains stimulent l'ADCC (Fc γ RIIA, Fc γ RIIIA) alors que d'autres l'inhibent (Fc γ RIIB).

L'un des arguments en faveur du rôle de l'ADCC dans l'activité des mAb est le fait qu'un polymorphisme du gène *FCGR3A* est associé à la réponse thérapeutique. Ce polymorphisme entraîne le remplacement d'un résidu phénylalanine en 158 par une valine (rs396991, F158V ou F176V selon les nomenclatures, fréquence allélique 25 %). Il a été associé d'abord à l'activité du rituximab dans les lymphomes non hodgkiniens, le variant V ayant une meilleure affinité pour les IgG1 humaines et donnant une meilleure réponse thérapeutique. Des résultats concordants ont été observés avec le trastuzumab dans le traitement des cancers du sein et avec le cetuximab dans le traitement des cancers colorectaux. Toutefois, l'ADCC n'est certainement pas le principal déterminant de l'activité du trastuzumab et du cetuximab : ces anticorps sont en effet peu actifs ou même inactifs lorsqu'existe une mutation oncogénique en aval des récepteurs ERBB2 et EGFR, respectivement (mutation de *PIK3CA* ou de *PTEN* dans le premier cas, de *KRAS* dans le second (cf. Chapitre 22)). Un autre polymorphisme, porté par le gène *FCGR2A*, pourrait jouer un rôle analogue (rs1801274, H131R ou H166R, fréquence allélique proche de 50 %).

L'ADCC est modulée par la présence des glycanes qui sont attachés au résidu asparagine 297 du domaine C_{H2} des IgG1. En particulier, elle est diminuée par la présence de résidus fucosyle dans la copule glucidique,

de sorte qu'un mAb produit par l'hybridome original génère plus d'ADCC que le même mAb produit par une lignée cellulaire de mammifères comme la lignée CHO (*Chinese hamster ovary*), qui possède une forte activité α 1-6 fucosyltransférase. Les mAb de type IgG2 ne suscitent pas de réponse de type ADCC.

Cytotoxicité dépendante du complément (CDC)

Les Ig, surtout les IgG1, permettent l'activation de la voie « classique » du complément aboutissant à la formation d'un complexe d'attaque membranaire (MAC, *membrane attack complex*), à la suite de plusieurs réactions de protéolyse ménagée catalysée par des convertases agissant en cascade (figure 12-7). L'activation du complément est d'autant plus intensive que l'épitope reconnu par l'anticorps est proche de la bicouche lipidique que constitue la membrane plasmique et que l'antigène est surexprimé, car deux molécules d'IgG1 suffisamment proches sont requises pour l'activation du complément. Il est vraisemblable que la concentration des antigènes membranaires comme le CD20 au niveau de radeaux lipidiques favorise la fixation du C1q et l'activation de la cascade de réactions aboutissant à la lyse cellulaire par le MAC. Toutefois, les cellules tumorales sont relativement mieux protégées de l'action du complément que les cellules normales par les protéines régulatrices du complément (CRP, *complement regulatory proteins*), CD46, CD55 et CD59. Cette activation du complément a été observée *in vivo* pour plusieurs mAb utilisés en clinique, rituximab et alemtuzumab en particulier, mais sa contribution à l'activité thérapeutique est difficile à démontrer.

Modulation de la disponibilité des mAb par le récepteur FcRn

La portion Fc des immunoglobulines peut interagir avec le récepteur néonatal FcRn (FCGRT) exprimé dans de nombreux types cellulaires comme les cellules endothéliales et les macrophages, récepteur qui joue un rôle important dans l'homéostasie des IgG. Cette interaction avec le récepteur FcRn permet d'augmenter la durée de vie des mAb dans la circulation jusqu'à plusieurs semaines, en raison du fait que ce récepteur est capable de recycler le mAb après son endocytose en le protégeant des lysosomes où il serait détruit.

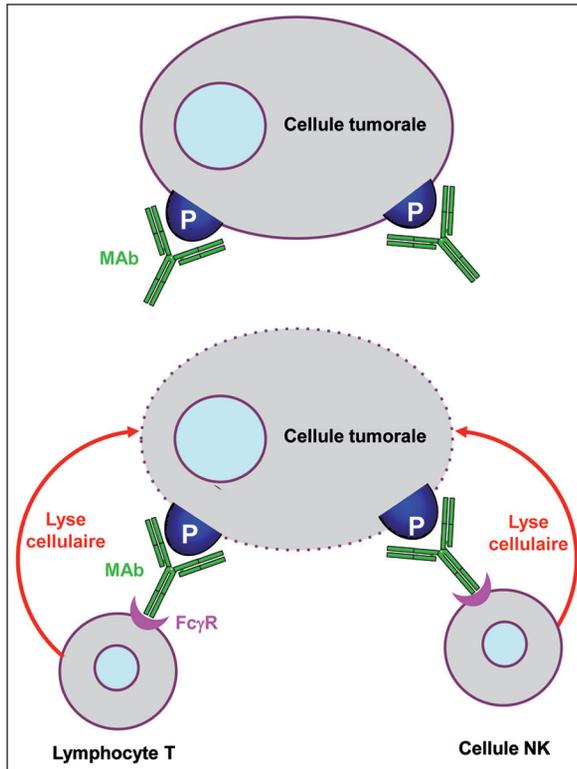


Figure 12-6. Cytotoxicité cellulaire dépendante de l'anticorps (ADCC). Les protéines membranaires P de la cellule tumorale sont reconnues par des anticorps spécifiques (mAb), pouvant eux-mêmes être reconnus au niveau de leurs fragments Fc par des cellules immunologiquement compétentes (lymphocytes T, cellules *natural killer*) grâce à leurs récepteurs Fc γ R. Cela entraîne la sécrétion de protéines de lyse (granzyme, perforine) qui détruisent la cellule tumorale.

Nouveaux anticorps, nouvelles technologies

L'ingénierie des anticorps a fait au cours de la décennie passée des progrès considérables, en particulier grâce à l'essor des techniques de recombinaison génétique. De nombreuses pistes sont suivies : remplacement des domaines de reconnaissance antigène-anticorps par d'autres séquences de reconnaissance dans des protéines de fusion ; optimisation des propriétés immunologiques ou pharmacocinétiques ; synthèse de fragments d'anticorps conservant les domaines variables et « allégeant » ainsi l'anticorps, etc. Nous décrirons dans le chapitre 15 une stratégie plus ancienne nommée ADEPT (*antibody-directed enzyme prodrug therapy*), visant à activer un pro-médicament au niveau de la tumeur par couplage d'un anticorps avec une enzyme d'activation.

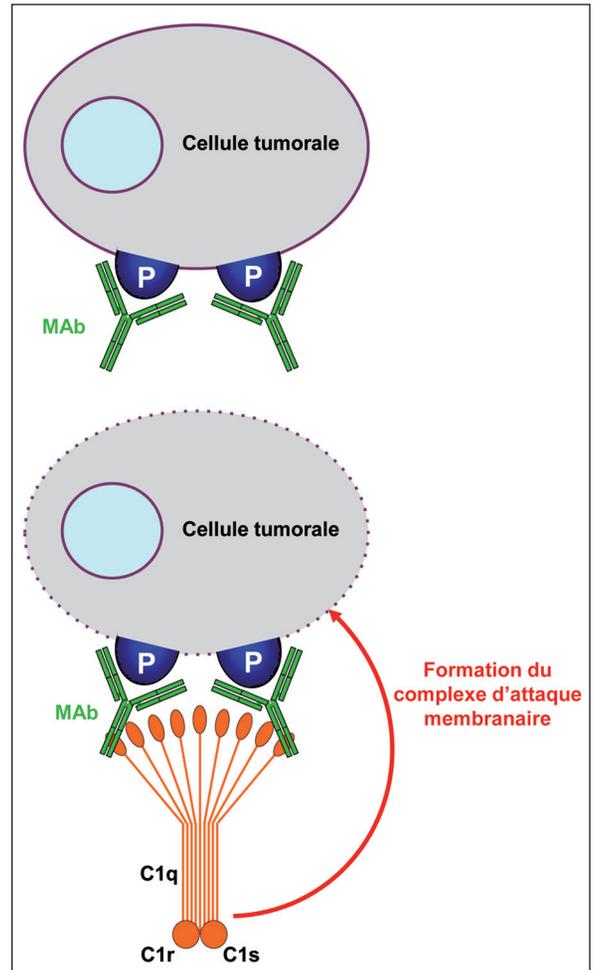


Figure 12-7. Cytotoxicité dépendant du complément (CDC). Le complément est un assemblage de protéines sécrétées se fixant sur les IgG1 liées aux protéines membranaires et détruisant les cellules.

Protéines de fusion

Les progrès des techniques de recombinaison génétique a permis de faire évoluer la structure même des anticorps en associant une partie de leur structure, issue des portions Fab ou Fc selon les cas, à la structure d'une autre protéine par fusion des ADNc. On peut d'une part conserver les portions Fab porteuses des sites de reconnaissance et de la spécificité anticorps et remplacer certains éléments de la portion Fc par des toxines, qui sont ainsi dirigées vers les cibles reconnues par les portions Fab. Une toxine de *Pseudomonas aeruginosa*, PE38, a été fusionnée à la portion Fab d'un anticorps, le moxetumomab, dirigé contre la protéine membranaire CD22, caractéristique des leucémies à tricholeucocytes, avec une efficacité remarquable mais une