

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers
Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master



Domaine : Sciences Biologiques
Spécialité/Option : Immunologie Approfondie
Département : Biologie

Intitulé

Les Anticorps monoclonaux en cancérologie

Présenté par :

CHAOUI MARWA

ZELFA RANDA

BOUFELFEL MANEL

Devant le membre de jury :

Mr YOUNSI. M

Mme MAAIRIF. S

Mme ABDAOUI. W

MCB

MCB

MAA

Président

Examineur

Encadreur

Université de Guelma

Université de Guelma

Université de Guelma

Juillet 2019

Remerciements

Nous remercions tout d'abord **ALLAH** le tout puissant pour nous avoir illuminé et ouvert les voies du savoir, et pour nous avoir accordé la volonté et le courage afin d'élaborer ce travail.

Monsieur **YOUNSLIM**, enseignant au département de Biologie à l'Université de Guelma, qui nous fait l'honneur de présider ce jury. Nous lui sommes reconnaissantes d'avoir accepté ce rôle et de nous avoir fait l'honneur de juger notre travail.

Madame **MAAIRIF.S**, enseignante au département de Biologie à l'Université de Guelma, de nous avoir accordé l'honneur d'examiner et juger notre travail.

Nos sincères remerciements s'adressent à Madame **ABDAOUI.W**, enseignante au département de Biologie à l'Université de Guelma de nous avoir soutenu, suivi et orienté tout au long de la réalisation de notre mémoire.

Enfin, que tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de notre gratitude en particulier les enseignants et les étudiants du département de biologie.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents :

A ma mère, ma source infinie de force, d'inspiration et d'amour qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir en tant qu'une maman sœur et ami : Je t'aime Mama.

Mon père, mon soutien moral et ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir : Je t'aime Papa.

*A mon cher mari, qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir, me pousser et m'aider à réaliser mes rêves. Pour ce qu'il m'apporte. Merci
Hamza.*

A ma chère sœur, Rimasse.

A mon frère, Mostapha.

A ma grand-mère, Beyouna

A mes cousines, Sarra, Rayanne, Aïda.

Mon amie, Chafia.

A tous qui m'aide pour accomplir ce modeste travail.

Manel

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie
ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études,
pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et
sécurité.*

*À mon père pour ses encouragements incessants et son soutien moral
aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de
réussite.*

*Que Dieu les protège et que ce travail soit la preuve modeste d'une
reconnaissance infinie et d'un profond amour pour eux.*

*A mon cher mari, qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir, me
pousser et m'aider à réaliser mes rêves. Pour ce qu'il m'apporte. Merci*

Amar

À mon cher frère : Fathí.

À mes sœurs : Dounía et Samra.

À ma grande mère

*À ma grande famille, mes collègues et tous ceux et toutes celles que j'ai
involontairement omis de citer et qui n'en demeurent pas moins chers.*

Randa

Dédicace

Je dédie cet événement marquant de ma vie à la mémoire de mon père disparu trop tôt. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde !

A ma très chère mère, Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon cher mari Saleh., qui a toujours été à mes côtés pour me soutenir, me pousser et m'aider à réaliser mes rêves. Pour ce qu'il m'apporte. A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect

A mes chères sœurs : Amína, safa et Wissal

A mon frère : Yahía

A ma grand-mère et grand-père.

À ma grande famille, mes collègues, mes amies et tous ceux et toutes celles que j'ai involontairement omis de citer et qui n'en demeurent pas moins chers.

Marwa

Sommaire

Contenu	pages
Introduction	01
Chapitre 1 : Généralité sur les Anticorps Monoclonaux	03
I. Généralités sur les immunoglobulines	03
I.1. Définition	03
I.2. Structure Générale Des Immunoglobulines	03
I.2.1. Domaines constants	03
I.2.2. Domaines variables	04
I.2.3. Fragments	04
I.3. Typologie	05
I.3.1. Isotypie	05
I.3.2. Allotypie	06
I.3.3. Idiotypie	06
II. Généralité sur les Anticorps Monoclonaux	07
II.1. Historique	07
II.2. Définition	09
II.3. Catégories d'anticorps monoclonaux et leurs nomenclatures	09
II.3.1. Anticorps murins	09
II.3.2. Anticorps chimériques	10
II.3.3. Anticorps humanisés	10
II.3.4. Anticorps humains	11
III. Technique permettant de la production des anticorps monoclonaux	13
III.1. Obtention des Anticorps murins	13
III.1.1. Technique d'Hybridome	13

III.2. Obtention des Anticorps chimériques et humanisés	16
III.2.1. Construction d'anticorps chimérique	16
III.2.2. Construction d'anticorps humanisés	17
III.3. Obtention des Anticorps entièrement humains	17
III.3.1. Technique de Phage display	17
III.3.2. Utilisation de lymphocytes B humains	19
III.3.3. Technique de souris transgénique	22
III.3.4. Technique de Ribosomes display	23
IV. Pharmacologie des anticorps monoclonaux	24
IV.1. Propriétés pharmacocinétiques des anticorps monoclonaux	24
IV.1.1. Devenir des anticorps monoclonaux dans l'organisme	25
IV.1.1.1. Absorption	25
IV.1.1.2. Distribution	25
IV.1.1.3. Élimination	27
IV.1.2. Variabilité PK interindividuelle	28
IV.1.2.1. Conséquences de la variabilité PK	28
IV.1.2.2. Influence des facteurs démographiques	28
IV.1.2.3. Influence de la masse antigénique	28
IV.1.2.4. Influence des anticorps induits	29
IV.2. Fonctions effectrices des anticorps thérapeutiques	29
IV.2.1. Anticorps neutralisants	29
IV.2.2. Anticorps antagonistes	30
IV.2.3. Anticorps cytolytiques	30
IV.2.4. Anticorps Monoclonaux utilisés contre le TNF- α	30
IV.3. Nouvelles avancées dans l'utilisation des anticorps monoclonaux en thérapeutique	31

IV.3.1. Anticorps armés	31
IV.3.1.1. Anticorps conjugués à des radio-isotopes	31
IV.3.1.2. Anticorps conjugués à une toxine : immuno toxines	32
IV.3.1.3. Anticorps conjugués à des enzymes	32
IV.3.1.4. Anticorps conjugués à un médicament	33
IV.3.2. Autre types d'anticorps	34
IV.3.2.1. Anticorps bispécifique	34
IV.3.2.2. Anticorps intracellulaire	35
IV.3.2.3. Fragments d'anticorps recombinants	35
V. Méthodes de purifications et la commercialisation des anticorps monoclonaux	36
V.1. Purification des anticorps	36
V.2. Commercialisation des anticorps monoclonaux	37
Chapitre 2 : Cancer et Système Immunitaire	39
Introduction	39
I. Généralités sur le cancer	40
I.1. Définition de cancer	40
I.2. Origine du cancer	40
I.3. Types de tumeur	41
I. 3.1.Tumeur Bénigne	41
I.3.2. Tumeur Maligne	41
I.4. Antigènes de tumeur	42
I.4.1. Antigènes spécifiques de tumeurs	43
I.4.2. Antigènes associés aux tumeurs	44
II. Immunité anti tumorale	45

II.1. Mécanismes effecteurs antitumoraux	47
II.1.1. Mécanismes de cytotoxicité à médiation cellulaire	47
II.1.2. Mécanismes de cytotoxicité antitumorale dépendante des anticorps (ADCC)	48
II.1.3. Rôle des cytokines	49
II.2. Mécanismes d'échappement Antitumoral	49
II.2.1. Diminution de l'expression des molécules du CMH	50
II.2.2. Echappement aux signaux d'apoptose	50
II.2.3. Défaut d'expression de molécules de costimulation	50
III. Immunothérapie du cancer	52
Chapitre 3 : Anticorps Monoclonaux en Cancérologie	54
I. Anticorps monoclonaux ciblant les antigènes associés aux tumeurs	54
I.1. Anticorps anti-CD20	54
I.1.1. Rituximab (Mabthera®)	54
I.1.1.1. Définition	54
I.1.1.2. Mode d'action	54
I.1.1.3. Association à la chimiothérapie	57
I.1.1.4. Indication thérapeutique	57
I.1.1.5. Posologie	57
I.1.1.6. Effet secondaire	58
I.2. Anticorps anti-EGFR	58
I.2.1. Cétuximab (Erbix®), et le Panitumumab (Vectibix®)	58
I.2.1.1. Définition	58

I.2.1.2. Mode d'action	59
I.2.1.3. Clinique	60
I.2.1.4. Indication	60
I.3. Anticorps anti-VEGF	61
I.3.1. Bevacizumab (Avastin®)	61
I.3.1.1. Définition	61
I.3.1.2. Production du Bevacizumab	61
I.3.1.3. Mode d'action	62
I.3.1.4. Indication	62
I.3.1.5. Efficacité clinique	63
I.3.2. Ramucirumab	63
I.3.2.1. Définition	63
I.4. Anticorps anti-HER2	63
I.4.1. Trastuzumab (Herceptin®)	64
I.4.1.1. Définition	64
I.4.1.2. Mode d'action	65
I.4.1.3. Association de Trastuzumab à la chimiothérapie	66
I.4.1.4. Trastuzumab et Système Immunitaire	67
I.4.2. Pertuzumab	67
I.4.2.1. Définition	67
I.4.2.2. Mode d'action	68

I.4.2.3. Etude Clinique	68
I.4.3.Trastuzumab-Emtansine	68
I.4.3.1. Définition	68
I.4.3.2. Mode d'action	69
I.4.3.3. Combinaison Trastuzumab-Duocarmycine	70
I.4.4. Lapatinib	70
I.4.4.1. Définition	70
I.4.4.2. Combinaison Trastuzumab-Lapatinib	70
I.4.4.3. Indication	70
I.5. Anticorps anti RANK-L	71
I.5.1. Denosumab	72
I.5.1.1. Définition	72
I.5.1.2. Mode d'action	72
I.5.1.3. Denosumab et le Système Immunitaire	73
I.5.1.4. Effets indésirables principaux	73
II. Anticorps exerçant des effets immunomodulateurs direct	74
II.1. Anticorps Anti CTLA4	75
II.1.1. Ipilimumab	76
II.1.1.1. Définition	76
II.1.1.2. Mode d'action	76
II.1.1.3. Indication	77
II.1.1.4. Effets indésirables	77

II.1.2.Tremelimumab	78
II.2. Anticorps Anti PD-1 ou PDL1	78
II.2.1. Indication de L'anti PD-1 et PD-L1	79
II.2.2. Efficacité de l'anti PD-1	80
II.2.3. Anticorps anti-PD-1 dans le Mélanome	81
II.2.3.1. Nivolumab et Pembrolizumab	81
II.2.3.1. Définition	81
II.2.4. Anticorps anti-PD-1/PD-L1 dans le cancer du Poumon	81
II.2.4.1. Atézolizumab	82
II.2.5. Anticorps anti-PD-1/PD-L1 dans le cancer de la Vessie	82

Liste des figures

Figure 1 : Structure schématique d'anticorps.....	5
Figure 2 : Illustration des phénomènes d'isotypie, allotypie et idiotypie.....	7
Figure 3 : Georges Köhler et Cesar Milstein.....	8
Figure 4 : Différentes générations d'anticorps thérapeutiques.....	12
Figure 5: Technique des hybridomes.....	16
Figure 6 : Technique du phage display.....	19
Figure 7: Immortalisation des cellules B mémoires humaines.....	21
Figure 8: Technique de souris transgénique.....	23
Figure 9 : Bibliothèque de scFv est transcrite et traduite in vitro.....	24
Figure 10 : Mécanismes effecteurs des anticorps monoclonaux	31
Figure 11 : Différents types d'immunoconjugués.....	34
Figure 12: Représentation schématique de différents formats des fragments d'anticorps recombinants.....	36
Figure 13 : Marché des anticorps monoclonaux en 2016 par indication.....	38
Figure 14 : Tumeur bénigne.....	41
Figure 15 : Présentation schématique de métastase.....	42
Figure 16: Tumeur maligne.....	42
Figure 17 : Différents mécanismes créent des antigènes spécifiques des tumeurs (TSA) et des antigènes associés aux tumeurs (TAA).....	45
Figure 18 : Diminution de l'expression des molécules de classe I du CMH des cellules tumorales pourrait permettre à une tumeur d'échapper à la reconnaissance par les CTL.....	51
Figure 19: Mécanisme d'action du Rituximab.....	56
Figure 20: Stratégies des thérapies ciblées anticancéreuses.....	60

Figure 21: Mécanisme d'action du bevacizumab.....	62
Figure 22: Structure générale des récepteurs à activité tyrosine kinase.....	64
Figure 23: Mécanismes d'action proposés de Herceptin (trastuzumab).....	65
Figure 24: Mécanismes d'action du trastuzumab.....	66
Figure 25 : Historique du trastuzumab.....	67
Figure 26 : Liaison du trastuzumab vs pertuzumab.....	68
Figure 27 : Mécanismes de résistance du T-DM1.....	69
Figure 28: Cercle vicieux.....	73
Figure 29 : Mécanismes des inhibiteurs de points de contrôles immunitaires.....	74
Figure 30: Axe CTLA-4/CD80-CD86.....	75
Figure 31: Mécanisme d'action des anti-CTLA-4.....	77
Figure 32 : Mécanisme d'action des anti-PD1.....	79

Liste des tableaux

Tableau I : Nomenclature internationale simplifiée des différentes catégories d'anticorps monoclonaux.....	12
Tableau II : Nomenclature internationale détaillée des différents types d'anticorps monoclonaux, tenant également compte de la cible potentielle.....	13
Tableau III : 10 Anticorps Monoclonaux en revue aux Etats-Unis et dans l'Union Européenne pour un possible mise sur le marché en 2017.....	37
Tableau IV : Résumé des mécanismes d'action du trastuzumab, du pertuzumab et du lapatinib.....	71
Tableau V : Principales indications des anticorps ciblant les molécules de costimulation inhibitrices CTLA-4 ou PD-1.....	80

Liste d'abréviation

Ac	Anticorps
AcM	Anticorps Monoclonal
ADCC	Cytotoxicité Cellulaire Dépendante des Anticorps
ADEPT	Directed Enzyme Prodrug Therapy
ADN	Acide Désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AHAM	Anticorps humain anti-anticorps murins
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ARN	Acide Ribonucléique
BMS	Biologie Médecine Santé
CAM	Complexe d'Attaque Membranaire
CAR-T	Chimeric Antigen Receptor-T
CBNPC	Cancers Bronchiques Non à Petites Cellules
CD	Cluster de Différentiation
CDR	Complementarity-Determining Regions
CH	Chaînes Lourdes (Heavy Chain)
CL	Chaînes Légères (Light Chain)
CMH	Complexe Majeur Histocompatibilité
CPA	Cellule Présentatrice d'Antigène
CpG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CRCm	Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille

CRP	Protéine C-Réactive
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Event
CTL	lymphocytes T cytotoxiques
CTLA	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associatedprotein
EBV	Virus Epstein-Barr
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
Fab	Fragment Antibody Binding
Fas	Apoptosis-Stimulating Fragment
Fc	Fragment Cristallisable
FcRn	Neonatal Fc Receptor
FcγR	Récepteurs Fc Gamma
FDA	Food and Drug Administration
FL	Leucovorin Fluorouracil
Gm	Geiger-Müller
GPA	Granulomatose Avec Polyangéite
H1N1	Grippe A
HAT	Hypoxanthine, Aminoptérine et Thymidine
HGPRT	Hypoxanthine-Guanine Phosphoribosyltransférase
IFL	Irinotecan, 5-Fluorouracile, acide Folinique
IFN-γ	Interféron Gamma
Ig	Immunoglobuline
IHC	Immunohistochimie

IM	Intramusculaire
ITK	Inhibiteurs de la Tyrosine kinase
JC	John Cunningham
LLC	Leucémie Lymphoïde Chronique
MSD	Membre Supérieur Droite
MTI	Médicament de Thérapie Innovante
NK	Cellule Natural killer
PAM	Polyangéite Microscopique Active
PCR	Polymerase Chain Reaction
PD	Récepteur Programme Cell Death protein
PK	Pharmacocinétique
PR	Polyarthrite Rhumatoïde
RANK-L	Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand
RAS	Retrovirus Associated Sequences
RFc	Récepteurs aux Fragments Constants
RFcγ	Récepteurs aux Fragments Constants γ
SC	Sous-Cutanée
scFv	Single Chain Fragment
SDR	Specificity Determining Residues
SNC	Système Nerveux Central
SRAS	Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
TAA	Antigènes Associés aux Tumeurs
TAP	Tumor Activated Prodrugs
TK	Thymidine kinase

TNF-α	Tumor Necrosis Factor- α
TSA	Antigènes Spécifiques de Tumeurs
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VH	Domaine Variable de la Chaîne Lourde
VIH	Virus d'Immunodéficience Humain
VL	Domaine Variable de la Chaîne Légère
YACs	Yeast Artificial Chromosomes

Glossaire

Acide zolédronique : Bisphosphonate. Il s'agit d'un médicament utilisé dans le traitement de l'ostéoporose.

Aminoptérine : La Drogue qui agit comme inhibiteur sur le métabolisme de l'acide folique.

Angiogenèse : Le processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants.

Anthracyclines : Une famille de médicaments anticancéreux d'origine naturelle.

Antibiothérapie systémique : Traitement par antibiotique. Les indications à l'antibiothérapie sont les infections bactériennes.

Barrière hématoencéphalique : La Barrière physiologique présente dans le cerveau chez tous les tétrapodes.

Bisphosphonates : Des molécules indiquées dans le traitement de l'ostéoporose et dans certains cas de métastases osseuses.

Cancérogène ou cancérigène : Facteur provoquant, aggravant ou sensibilisant l'apparition d'un cancer.

Cancérologie : « Science des cancers » également appelée oncologie s'intéresse à tous les cancers.

Carcinome bronchique : Le traitement du cancer du poumon dépend du type histologique et du bilan d'extension.

Carcinome rénal : Adénocarcinome et représente 90 à 95% des tumeurs rénales malignes primitives.

Carcinome urothélial: La forme morphologique la plus fréquente de cancer des voies excrétrices (calices, bassinet...).

Cataracte : L'opacification partielle ou totale du cristallin, lentille convergente située à l'intérieur de l'œil.

GLOSSAIRE

Cisplatine : Complexe à base de platine utilisé dans le traitement de différents cancers tels les sarcomes, carcinomes, lymphomes.

Colectomie : Opération chirurgicale qui correspond à l'ablation du côlon.

Dacarbazine : Agent chimiothérapeutique anticancéreux utilisé dans le traitement de divers cancer.

Dexaméthasone : Appartient à la classe de médicaments appelés corticostéroïdes.

Docétaxel : Alcaloïde obtenu par hémisynthèse à partir d'une molécule extraite des feuilles de l'if européen.

Dyspnée: Respiration cyclique, avec mouvements respiratoires dont l'amplitude et la fréquence augmentent progressivement.

Fludarabine : Produit de chimiothérapie utilisé dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique.

Folliculite : L'infection de l'appareil pilo-sébacé (le poil et sa racine) par un germe qui est le plus souvent le staphylocoque doré.

Food and Drug Administration : Une agence du service de santé publique des États-Unis qui fournit un certain nombre de services liés à la santé.

Granulomatose avec Poly angéite (Maladie de Wegener) GPA: Une vascularité nécrosante associant une inflammation de la paroi vasculaire des vaisseaux de petit calibre.

Homéostasie : Un phénomène par lequel un facteur clé (par exemple, température).

Choc anaphylactique : Une réaction allergique exacerbée.

Hypomagnésémie : Correspondant à une concentration sérique de Mg < 1,8 mg/dL (< 0,70 mmol/L).

Hypoxanthine : Une base nucléique à base purique de formule *6-oxypurine*.

Immunsation : Le processus par lequel le système immunitaire d'un individu se fortifie contre un agent.

Immunohistochimie : Une méthode de localisation de protéines dans les cellules d'une coupe de tissu.

GLOSSAIRE

Immunothérapie : Un traitement qui consiste à administrer des substances qui vont stimuler les défenses immunitaires de l'organisme afin de lutter contre différentes maladies.

Liquide céphalorachidien : Un liquide biologique transparent dans lequel baignent le cerveau et la moelle spinale.

Moelle épinière : Fait partie du système nerveux central et est un prolongement du cerveau.

Mutagenèse : Le processus d'apparition d'une mutation.

Néoplasme : On appelle néoplasme tout tissu qui se construit de façon anormale.

Onc protéines : Protéines stimulant la division cellulaire ou inhibant la mort cellulaire programmée (apoptose).

Oncogènes : Une catégorie de gènes dont l'expression favorise la survenue de cancers.

Orthopédique : La spécialité chirurgicale qui a pour objet la prévention et la correction des affections de l'appareil locomoteur

Ostéonécrose de la mâchoire : Une maladie sévère de l'os qui atteint les mâchoires

Paclitaxel : Une molécule produite par des champignons endophytes, utilisé dans le cancer du poumon, le cancer du sein et le cancer de l'ovaire.

Pathologie : La science qui a pour objet l'étude des maladies et notamment leurs causes et leurs mécanismes.

Pinocytose : Un type d'endocytose permettant la capture de macromolécules et de solutés dans de petites vésicules redirigées vers les lysosomes en vue de leur assimilation.

Plexus choroïdes : Forment des structures, des parois, des ventricules du cerveau où le liquide cébrospinal est sécrété.

Polyarthrite rhumatoïde : Une maladie autoimmune inflammatoire chronique qui touche plusieurs articulations chez un individu.

Posologie : L'étude des modalités d'administration des médicaments

Protéine A : Une protéine de surface de 40-60 KDa initialement trouvée dans les parois des bactéries *Staphylococcus aureus*.

GLOSSAIRE

Protéine G : Une GTPase ; elle est aussi appelée «protéine liant le GTP ». ... Le GTP est hydrolysé en GDP + phosphate inorganique (Pi).

Région charnière : Elle confère la flexibilité aux anticorps qui la possèdent (les IgG et les IgA).

Sciaticque : Une douleur est généralement ressentie d'un seul côté du corps, dans une fesse et tout le long d'une jambe jusqu'au pied; parfois aussi au bas du dos.

Synergique : Un type de phénomène par lequel plusieurs facteurs agissant en commun ensemble créent un effet global.

Syngénie : Terme utilisé dans les greffes : greffe syngénique entre des individus génétiquement identiques.

Tétrahydrofolate : Produit par la dihydrofolate réductase à partir du dihydrofolate.

Transcytose : Correspond à un passage (entrée et sortie) à travers une cellule.

Transferrine : Une protéine du sang qui est chargée du transport du fer vers les organes.

Vasculogénèse : Le processus de formation de vaisseaux sanguins dans l'embryon.

virus du polyome : Font partie de la famille des Polyomaviridae. Ce sont des virus dont le génome est constitué d'ADN bicaténaire circulaire.

Voie intrathécale : Consiste à injecter un médicament au niveau lombaire, dans l'espace sous-arachnoïdien.

Introduction

Le sang humain a la capacité de neutraliser et d'éliminer des germes. Cette caractéristique biologique a été pour la première fois mise en évidence dans les années 1890 par Emil Von Behring et Shibasaburo Kitasato. Le transfert du sérum d'un lapin infecté par la diphtérie à une souris permet de la protéger contre l'infection par cette bactérie. Ces recherches aboutirent à la mise au point d'un sérum thérapeutique antidiphtérique capable de neutraliser les toxines bactériennes. Ce fut l'une des premières immunothérapies passives qui permit de guérir de nombreux enfants et l'attribution à Behring du prix Nobel en Physiologie ou Médecine en 1901.

Durant un siècle, les recherches se sont poursuivies et ont permis de caractériser les substances dotées de cette capacité de neutralisation: les anticorps appelés aussi immunoglobulines (Ig) (GOUBET et *al.*, 2018). Les anticorps sont des glycoprotéines appartenant au groupe des superfamille des immunoglobulines (Ig) sécrétées par Les cellules B pour identifier et neutraliser les organismes étrangers ou les antigènes (Nelson et *al.*, 2010). La maturation de ces découvertes ont conduit, aux premiers traitements par des anticorps monoclonaux (Acm) initiés par Ronald Levy. Ces cas rapportés ont ensuite abouti au premier essai clinique d'un Acm anti-CD20 qui a ouvert la voie vers de nombreux essais cliniques évaluant de multiples Acm à cibles et mécanismes divers (GOUBET et *al.*, 2018). La réponse immunitaire à un antigène ou à un organisme est généralement de nature polyclonale, en 1975, Kohler et Milstein ont été les premiers à décrire la production in vitro de murine Acm à partir d'hybridomes (Nelson et *al.*, 2010).

Depuis le moment où le premier anticorps monoclonal a été généré en 1975 et le premier anticorps monoclonal entièrement sous licence en 1986, le domaine du développement des anticorps monoclonaux représente un nouveau moyen de cibler des mutations spécifiques et des anomalies de la structure des protéines et de leur expression dans un large éventail de maladies et conditions. Aujourd'hui, avec les progrès rapides et importants du séquençage génétique et la traduction de la recherche fondamentale en sciences médicales en pratique clinique, les anticorps monoclonaux humanisés constituent le groupe de molécules dérivées de la biotechnologie dont la croissance est la plus rapide dans les essais cliniques actuels (Nelson et *al.*, 2010). La valeur globale du marché des anticorps est d'environ 20 milliards de dollars par an (Maggon, 2007). Environ 30 anticorps monoclonaux sont actuellement approuvés par la FDA pour une utilisation chez l'homme pour le traitement de diverses

maladies et affections, notamment les maladies inflammatoires chroniques, la transplantation, les maladies infectieuses et les maladies cardiovasculaires, le cancer (Li et Zhu, 2010).

Pour traiter les cancers, les oncologues ont disposé jusqu' alors de trois moyens, la chirurgie vieille de plusieurs siècles, la radiothérapie qui ne date que du début du siècle dernier et la chimiothérapie qui n'a qu'une cinquantaine d'années. Si le développement de nouveaux médicaments cytotoxiques et de nouvelles techniques de radiothérapie et de chirurgie a prolongé la survie et amélioré la qualité de vie des patients, les oncologues sont confrontés journallement aux effets indésirables de ces traitements et font malheureusement l'expérience de fréquents échecs thérapeutiques. De ce fait, les cancers sont aujourd'hui la première cause de décès dans notre pays, et des modalités thérapeutiques innovantes doivent être proposées. Dans ce contexte, l'un des développements les plus intéressants dans le domaine des thérapies anticancéreuses est celui des anticorps monoclonaux dont l'efficacité clinique est maintenant prouvée, conduisant à une large utilisation clinique de quelques anticorps (Li et Zhu, 2010). Ces Acm regroupent des anticorps à cible tumorale et à cible immunitaire. Initialement pensée comme une immunothérapie passive, l'action de certains des Acm ciblant des antigènes tumoraux, notamment les Acm les plus efficaces, repose sur l'initiation d'une réponse immunitaire adaptative par divers mécanismes. Ceci illustre la nécessité d'initier une réponse immune antitumorale spécifique et à long terme pour avoir une efficacité des traitements contre le cancer (GOUBET et *al.*, 2018).

Notre travail de recherche sera réparti en trois chapitres, dont le premier chapitre est une revue bibliographique sur les anticorps monoclonaux, leurs types et leur méthode de fabrication. Dans le deuxième chapitre le cancer, une compréhension de l'interaction entre le système immunitaire et les cellules cancéreuses est très importante. Les réponses immunitaires qui se développent contre les cellules cancéreuses, ainsi que les méthodes par lesquelles les cancers réussissent à échapper à ces réponses. Dans le troisième chapitre, nous clôturons notre travail avec une présentation des 14 anticorps monoclonaux qui ont eu l'AMM et qui sont utilisés en cancérologie avec leurs principaux modes d'actions et effets secondaires.

I. Données sur les immunoglobulines

I.1. Définition

Les Ac sont des glycoprotéines de la superfamille des Ig formées de 4 chaînes polypeptidiques (150.000 uma) : 2 chaînes lourdes (CH) (H pour heavy de 50.000 uma chacune) et 2 chaînes légères (CL) (L pour light de 25.000 uma chacune) qui sont reliées entre elles par un nombre variable de ponts disulfures assurant une flexibilité de la molécule. Ces chaînes forment une structure en Y et sont constituées de domaines Ig de 110 acides aminés environ. Chaque chaîne légère est constituée d'un domaine constant et d'un domaine variable. Les chaînes lourdes sont composées d'un domaine variable et de 3 ou 4 fragments constants selon l'isotype. Pour un Ac donné, les deux chaînes lourdes sont identiques, de même que les deux chaînes légères (Teillaud, 2009).

Les chaînes légères sont de deux types, kappa et lambda. Une même molécule d'Ig a deux chaînes légères du même type. Par contre, le type des chaînes lourdes définit la classe de l'Ig. Il existe cinq types de chaînes lourdes (chaînes γ , α , μ , ϵ et δ), donc cinq classes d'Ig (IgG, IgA, IgM, IgE, IgD, respectivement). Les Ig de chaque classe utilisent soit des chaînes légères kappa, soit des chaînes légères lambda. Ainsi, les Ac ont trois extrémités. Deux d'entre elles terminent les fragments Fab («Fragment antibody binding»). Elles sont toutes semblables et sont complémentaires de la forme moléculaire de l'Ag. Elles sont appelées extrémités variables car elles sont différentes d'un Ac à l'autre : pour chaque Ag, il existe un Ac avec des extrémités de Fab adaptées. La troisième extrémité appartient à la région constante. Cette extrémité possède une séquence d'acides aminés identiques pour tous les Ac appartenant à une classe ou sous-classe donnée. Cette extrémité est capable de se lier sur des récepteurs membranaires particuliers des cellules du système immunitaire de l'espèce (Teillaud, 2009).

I.2. Structure générale des immunoglobulines

I.2.1. Domaines constants

Les domaines constants sont caractérisés par une séquence en acides aminés très proche d'un Ac à l'autre, caractéristique de l'espèce et de l'isotype. Chaque chaîne légère en possède un exemplaire noté CL. Les chaînes lourdes comportent, selon l'isotype, trois ou quatre domaines constants CH1, CH2, CH3 et CH4. Les domaines constants ne sont pas impliqués dans la reconnaissance de l'Ag, mais interviennent dans l'activation du système du complément. Les cellules immunitaires possédant les récepteurs aux fragments constants

(RFc) sont capables de lier les Ac. En se fixant par l'extrémité de leur fragment constant sur des cellules effectrices du système immunitaire, les Ac permettent la lyse de la cellule ou de la particule virale qui présente à sa surface l'Ag reconnu.

I.2.2. Domaines variables

Un Ac possède quatre domaines variables situés aux extrémités des deux «bras» de l'Ig. L'association entre un domaine variable porté par une chaîne lourde (VH) et le domaine variable adjacent porté par une chaîne légère (VL) constitue le site de reconnaissance (ou paratope) de l'Ag. Ainsi, une molécule d'Ig possède deux sites de liaison à l'Ag, un au bout de chaque bras. Ces deux sites sont identiques, d'où la possibilité de lier deux molécules d'Ag par Ac. Les fragments Fab reconnaissent une protéine et se fixent à elle, créant un complexe immun.

I.2.3. Fragments

Comme on peut aisément le déduire de ce qui vient d'être rappelé, le clivage enzymatique spécifique d'une Ig permet d'isoler différents fragments :

- le fragment Fc (cristallisable) : il est le support des propriétés biologiques de l'Ig, en particulier sa capacité à être reconnue par des effecteurs de l'immunité et à activer le complément ou à faciliter la phagocytose par les macrophages (opsonisation), mais il ne reconnaît pas l'Ag; il est constitué des fragments constants des chaînes lourdes (CH₂) au-delà de la région charnière («hinge»).
- le fragment Fv : c'est le plus petit fragment gardant les propriétés de l'Ac qui possède des domaines Ig; il fixe donc l'Ag avec la même affinité que l'Ac complet et est monovalent; il est constitué uniquement des régions variables VL et VH.
- le fragment Fab : il a la même affinité pour l'Ag que l'Ac complet et est monovalent; il est formé de la chaîne légère en entier (VL+CL) et d'une partie de la chaîne lourde (VH+CH₁).
- Le fragment F (ab')₂ : il a la même affinité que l'Ac entier pour l'Ag et est divalent; il correspond à l'association de deux fragments Fab reliés par un petit fragment des parties constantes des chaînes lourdes, la région charnière (hinge) (Teillaud, 2009).

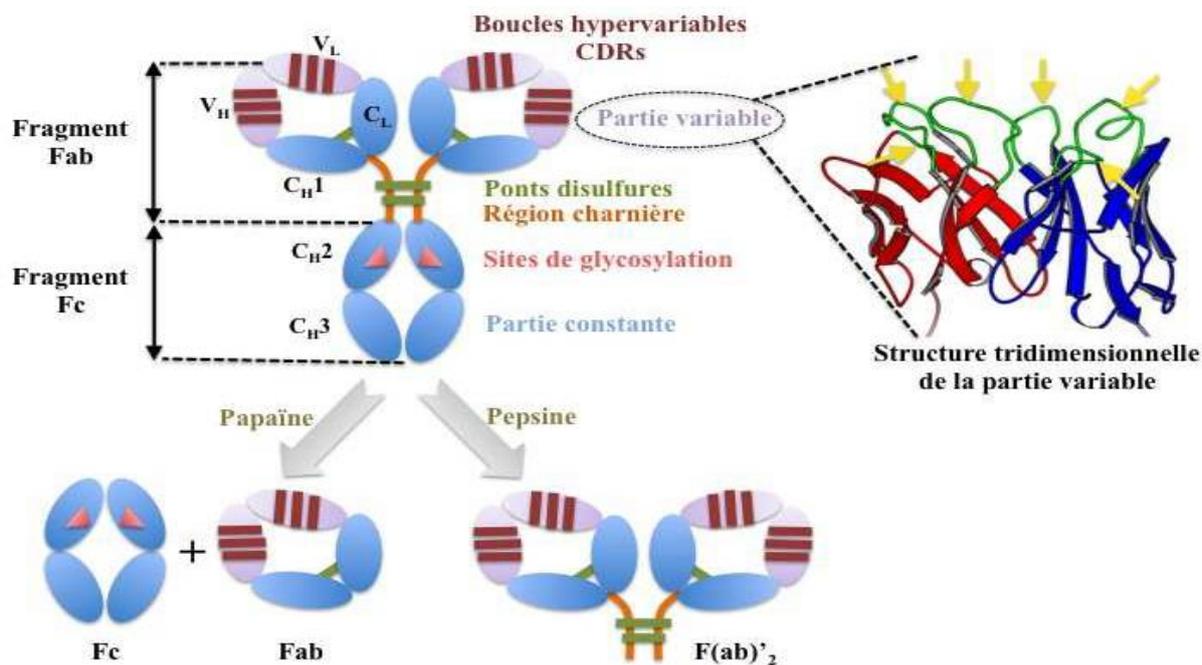


Figure 1: Structure schématique d'anticorps (1).

I.3. Typologie

Une Ig peut induire la production d'Ac dirigés contre ses propres déterminants antigéniques. Selon l'appartenance de ces déterminants antigéniques, on définit l'isotypie et l'allotypie. L'isotypie caractérise les déterminants antigéniques des Ig identiques pour tous les individus de même espèce. Les Ac anti-isotypiques sont donc obtenus en injectant des Ig d'une sous-classe donnée chez un animal de laboratoire. L'allotypie caractérise les déterminants antigéniques des Ig présents chez des individus de la même espèce, mais génétiquement différents. A noter que les Ac anti-allotypiques sont obtenus par l'immunisation d'un individu de la même espèce, mais génétiquement distinct. Quant à l'idiotypie, elle caractérise la présence d'un épitope propre à une molécule issue d'un seul clone (Figure 2).

I.3.1. Isotypie

Les Ac (ou Ig) sont subdivisés en classes ou isotypes, selon la structure des domaines constants des chaînes lourdes : les chaînes γ , α , μ , ϵ et δ correspondent respectivement aux immunoglobulines IgG, IgA, IgM, IgE et IgD. Il existe également des sous-classes d'Ig, reflétant des différences plus fines entre chaînes lourdes. L'homme possède ainsi quatre sous-

Classes d'IgG et 2 sous-classes d'IgA. Il existe également des isotopes de chaînes légères, celles-ci pouvant être κ (kappa) ou λ (lambda).

I.3.2. Allotypie

Le système Gm met en évidence les divers allotypes des chaînes lourdes des immunoglobulines IgG. Il permet également de différencier les molécules des quatre sous-classes, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Quant au système Km (à l'origine appelé Inv), comme il est porté par la chaîne légère kappa, cet allotype est donc présent sur toutes les classes d'Ig. Enfin, les allotypes définis par le système Am sont situés sur les IgA, et plus précisément sur les chaînes $\alpha 2$. Il existe deux isotopes $\alpha 1$ et $\alpha 2$ de chaînes α , caractérisant les sous-classes Am1 et Am2 des IgA.

I.3.3. Idiotypie

L'idiotype est un déterminant antigénique propre à une seule Ig (ou du moins à toutes les Ig produites par un même plasmocyte). Ce déterminant antigénique «idiotypique» fait partie ou est très proche du site de reconnaissance de l'Ag, dans la région hypervariable de l'Ig. Il est intéressant de constater que ces déterminants idiotypiques sont reconnus comme des Ag par les lymphocytes T et B de l'individu qui a lui-même produit l'Ig en question. Ceci paraît transgresser le principe de la tolérance au soi, mais s'explique par le fait que les séquences d'acides aminés qui constituent ces déterminants idiotypiques résultent de modifications somatiques de l'ADN et ne peuvent donc contribuer à l'établissement de la tolérance centrale. Chez un individu donné, la synthèse d'un Ac A dirigé contre un déterminant antigénique donné aboutit à la synthèse d'Ac B dirigés contre les déterminants idiotypiques de l'Ac A. La synthèse de l'Ac B induit la synthèse d'un Ac C dirigé contre le déterminant idiotypique de l'Ac B, et ainsi de suite. Cette reconnaissance en série de déterminants idiotypiques sur les Ig d'un même individu peut évoquer un réseau, qualifié de réseau idiotypique. Si le phénomène de réseau idiotypique existe bel et bien, son rôle exact dans l'homéostasie des réponses immunitaires reste à définir, bien que beaucoup d'hypothèses aient été formulées à ce sujet (Teillaud, 2009).

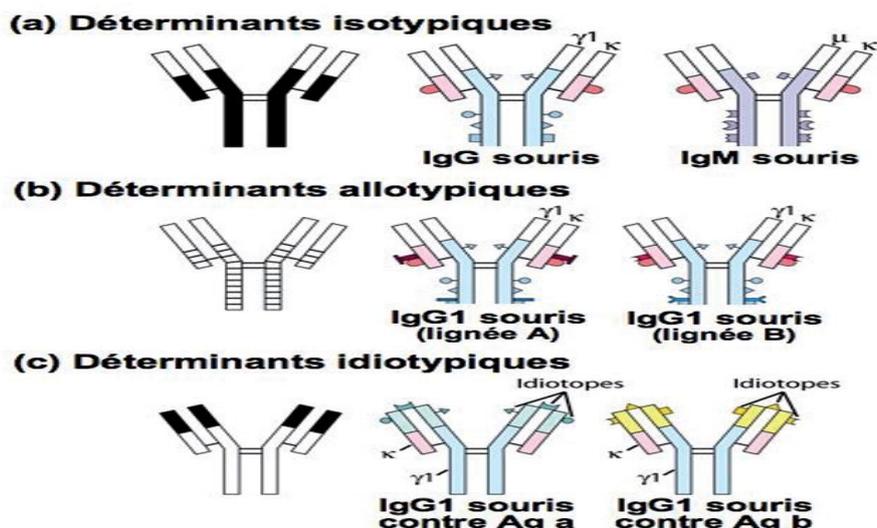


Figure 2 : Illustration des phénomènes d'isotypie, allotypie et idiotypie (Moutschen et Scheen, 2009).

II. Généralité sur les anticorps monoclonaux

II.1. Historique

Dès le début du siècle dernier, un immunologiste, Paul Ehrlich, eut la vision que les anticorps seraient utilisés en thérapeutique comme des « balles magiques ». Il a fallu près d'un siècle et la découverte des anticorps monoclonaux en 1975 par Georges Köhler et Cesar Milstein pour que cette vision se transforme en réalité.

Cette découverte permettait enfin d'obtenir un anticorps de spécificité unique en quantité importante, et l'équipe de Ron Levy décrivait en 1982 le premier succès de l'utilisation d'un anticorps monoclonal (AcM) en thérapeutique. Celui-ci, utilisé pour le traitement des rejets aigus des greffons, laissait entrevoir une large utilisation thérapeutique des anticorps monoclonaux. Pourtant, au cours des 12 années suivantes, un seul AcM, l'anticorps muromonab-CD3 (Orthoclone OKT®3), recevra une autorisation des autorités réglementaires américaines (Food and drug administration FDA) pour une utilisation clinique, en l'occurrence le traitement du rejet aigu d'allogreffes rénales, hépatiques ou cardiaques. Il faudra attendre 1994 pour qu'un autre AcM, l'abciximab (ReoPro®), reçoive l'autorisation de la FDA pour une seconde utilisation clinique. Cet anticorps, dirigé contre un récepteur présent sur les plaquettes, il est utilisé pour éviter la formation de caillots chez les patients ayant bénéficié d'une chirurgie cardiovasculaire. En fait, les années 80 et la première moitié des années 90 ont été marquées par deux faits majeurs :

Le premier est l'échec de nombreux essais cliniques réalisés avec des anticorps monoclonaux, en particulier pour le traitement des cancers. Ces échecs répétés avaient pour principale cause l'origine murine des anticorps utilisés, qui induisent constamment la formation d'anticorps humains dirigés contre les anticorps murins (AHAM). Dans 84 % des cas, cette réponse immune est importante, d'autant plus que l'anticorps est utilisé de façon répétée et à forte dose. Ces AHAM entraînent une élimination rapide des anticorps murins et des effets adverses parfois fatals. De plus, les anticorps murins ont une demi-vie courte dans le sérum, ainsi qu'une capacité limitée pour recruter des effecteurs cellulaires ou les protéines impliquées dans la réponse immune et réaliser une cytotoxicité cellulaire dépendante de l'anticorps ou une cytotoxicité dépendante du complément.

Le second fait majeur est le développement de l'ingénierie génétique des anticorps, qui a permis de transformer progressivement les anticorps murins en anticorps humains. Cette transformation a d'abord conduit à la construction d'anticorps chimériques, dans lesquels les régions constantes des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines murines sont remplacées par des régions constantes humaines.

Cette chimérisation conduit à une diminution importante des réponses immunes dirigées contre les régions murines et a conduit au succès de l'abciximab (ReoPro®), premier anticorps chimérique utilisé en clinique

(Dominique et Jean-Luc, 2006 ; Dominique et Virginie, 2005).

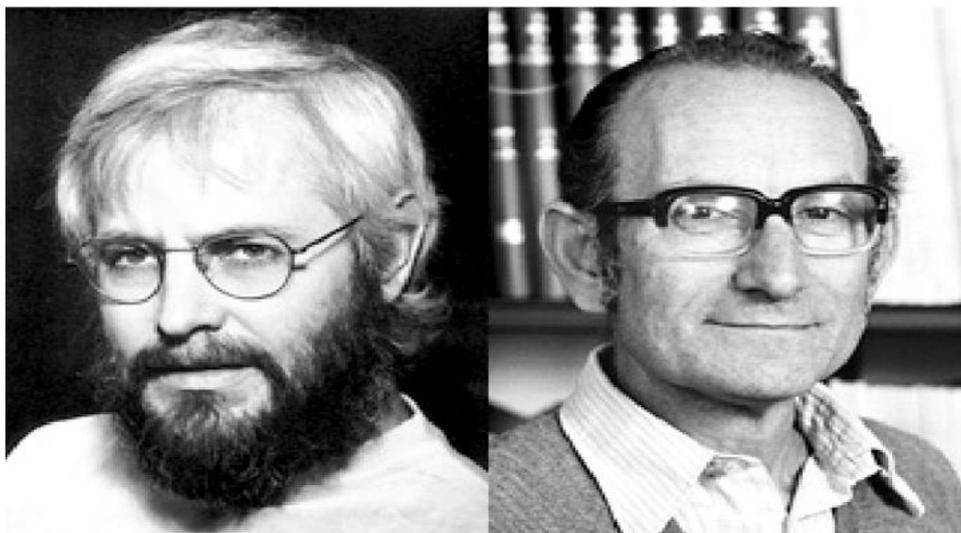


Figure 3: Georges Köhler et Cesar Milstein (Scheen et Moutschen, 2009).

II.2. Définition

Un Ac monoclonal (Mab en anglais «Monoclonal antibody») est un Ac (ou Ig) produit à partir d'un seul clone de plasmocyte, au contraire des Ac polyclonaux isolés directement à partir d'un animal immunisé (mélange d'Ac différents). C'est pourquoi il se nomme «monoclonal». Ceci signifie que chaque Ac produit par cette cellule est exactement identique. Les Ac monoclonaux ont été artificiellement produits contre un Ag bien déterminé dans un but bien défini. Ils sont extrêmement spécifiques puisqu'ils ne reconnaissent qu'un seul type d'épitope sur un Ag donné. Ils permettent donc une biothérapie ciblée contre un certains nombres de maladies (Waldmann et Thomas, 2003).

II.3. Catégories d'anticorps monoclonaux et leurs nomenclatures

II.3.1. Anticorps Murins (o-mab)

La production d'anticorps monoclonaux d'origine murine a été rendue possible par les travaux de Kohler et Milstein en 1975(Kohler et Milstein, 1975), qui ont réussi à fusionner des lymphocytes B normaux provenant d'une souris préalablement immunisée avec des cellules de myélome ayant la propriété de proliférer en culture de façon indéfinie. Cette technique fournit une source illimitée d'Ac monoclonaux murins aux propriétés antigéniques et physico-chimiques stables qui sont ainsi produits à grande échelle (Mistretta et *al.*, 2009).

Les premières applications thérapeutiques sont apparues en 1981 avec le muromomab (Orthoclone®), un Ac monoclonal de souris contre (Mistretta et *al.*, 2009) le CD3 (Demoersman et *al.*, 2014), utilisé dans le traitement des épisodes de rejet aigu en transplantation d'organes. Les Ac de souris sont reconnus par la voyelle «o» (venant de «mouse») précédant le suffixe «mab».

Parallèlement, les Ac monoclonaux prirent une place très importante comme réactifs de laboratoire (Mistretta et *al.*, 2009). Cependant, l'amélioration des Ac est rapidement devenue une nécessité pour leur utilisation in vivo chez l'homme. En effet, outre une affinité imparfaite pour les antigènes humains (faible fixation de ces Ac sur les récepteurs Fc humains), ce qui conduit à des propriétés effectrices non optimales, les Ac murins induisent l'apparition d'Ac appelés HAMA («Human Anti Mouse Antibodies»). Cette xéno-immunisation diminue non seulement l'efficacité de ce type d'Ac (action neutralisante), mais peut aussi induire des effets indésirables dus à la formation de complexes immuns. Ainsi, des

réactions allergiques et même, rarement, des chocs anaphylactiques ont été rapportés (Dillman *et al.*, 1986).

II.3.2. Anticorps chimériques (xi-mab)

L'élucidation de la structure en domaines des anticorps et l'évolution des technologies de biologie moléculaire ont permis de créer, à partir de 1984, des anticorps chimériques humain souris (Hudson et Souriau, 2003). Leur production consiste à fusionner des gènes codant les régions variables d'un anticorps murin et les régions constantes d'une immunoglobuline (Ig) humaine. Ces chimères peuvent interagir avec les cellules humaines et conservent une spécificité et une affinité équivalentes à celle de l'anticorps murin parental. Une conséquence de la substitution d'un fragment Fc murin par un fragment humain est une cytotoxicité accrue due à une interaction de meilleure affinité avec les récepteurs FcγR présents sur les cellules effectrices des patients. La chimérisation permet de varier les isotypes des anticorps et, donc, de manipuler les fonctions potentielles de l'anticorps (par exemple, la fixation du complément). Un autre avantage est l'augmentation de la demi-vie de l'Ac, qui passe de moins de 20 heures avec les Ac murins à plusieurs jours, s'approchant des 21 jours des IgG humaines endogènes (Mould et Sweeney, 2007). Enfin, par rapport aux Ac murins, le recours à des Ac hybrides souris–homme permet de réduire la réponse HAMA, et, donc, d'améliorer le profil de tolérance en limitant le risque de xéno-immunisation (Clark, 2000). Ceci facilite l'utilisation de ces agents thérapeutiques. Cependant, les Ac monoclonaux chimériques comportent une partie non négligeable de protéines murines (33 % environ), suffisante pour encore pouvoir induire une réponse immune humaine anti-souris (Tableau I). Dans la nomenclature internationale, on peut aisément reconnaître ces Ac chimériques par la syllabe «xi» précédant le suffixe «mab» (Tableau II).

Un exemple, bien connu, est fourni par l'Infliximab (Remicade®) dont le nom peut être scindé comme suit : inf- + -li- + -xi- + -mab : il s'agit donc d'un Ac monoclonal chimérique modulant l'immunité (utilisé en clinique notamment dans la polyarthrite rhumatoïde et la maladie de Crohn) (Riechmann *et al.*, 1988).

II.3.3. Anticorps humanisés (zu-mab)

Afin d'augmenter la part humaine des Ac, un progrès supplémentaire a pu être obtenu. Il consiste à substituer les CDRs («Complementarity-Determining Regions», région

Hypervariable) d'une IgG humaine par ceux de l'Ac monoclonal de souris, conférant ainsi à l'IgG humaine la spécificité de l'Ac murin parental.

Ces Ac, qualifiés d'humanisés, ont été produits dans les années 1988-1991 (Riechmann et *al.*, 1988). Ils contiennent seulement la petite partie variable murine composée des régions hypervariables ou CDR qui sont en contact étroit avec l'antigène. Ces CDR sont greffés dans la région variable d'une Ig humaine. Ils induisent beaucoup moins de réponses immunes anti-souris (HAMA) que les Ac chimériques dont ils sont dérivés (7% par rapport à 20 à 40%). Mais, l'affinité de l'Ac humanisé n'est pas toujours aussi élevée que l'Ac d'origine, ce qui, dans certains cas, peut entraîner une baisse d'efficacité. Dans la nomenclature internationale, on peut aisément identifier ces Ac humanisés par la syllabe «zu» précédant le suffixe «mab». Un exemple de cette catégorie est donné par le trastuzumab (Herceptin®) dont le nom peut être scindé comme suit : tras- +tu(m)- + -zu- + -mab : il s'agit donc d'un Ac monoclonal humanisé dirigé contre une tumeur (en l'occurrence le cancer du sein) (Hudson et Souriau, 2003; Baty et Chames, 2006).

II.3.4. Anticorps humains (u-mab)

Des Ac entièrement humains et biocompatibles ont été recherchés pour l'immunothérapie passive et sont devenus accessibles à partir de 1994. La technique des hybridomes a progressivement été remplacée par d'autres méthodes dont la technologie de l'ADN recombinant, la technique du «phage display» et le recours à des souris transgéniques (Hudson et Souriau, 2003; Baty et Chames, 2006). Il est vraisemblable que les Ac monoclonaux qui arriveront jusqu'à l'étape finale de la commercialisation et de l'utilisation en thérapeutique dans les prochaines années appartiendront de plus en plus à cette catégorie d'Ac humains. On peut les reconnaître par la voyelle «u» précédant le suffixe «mab».

Un exemple de cette famille est l'adalimumab (Humira®) dont le nom peut être scindé comme suit : ada- + -li(m)- + -u- + -mab : il s'agit donc d'un Ac monoclonal humain modulant l'immunité (indiqué notamment dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde). L'utilisation d'Ac humains devrait permettre d'encore améliorer le profil de tolérance par rapport aux Ac humanisés (Scheen, 2009).

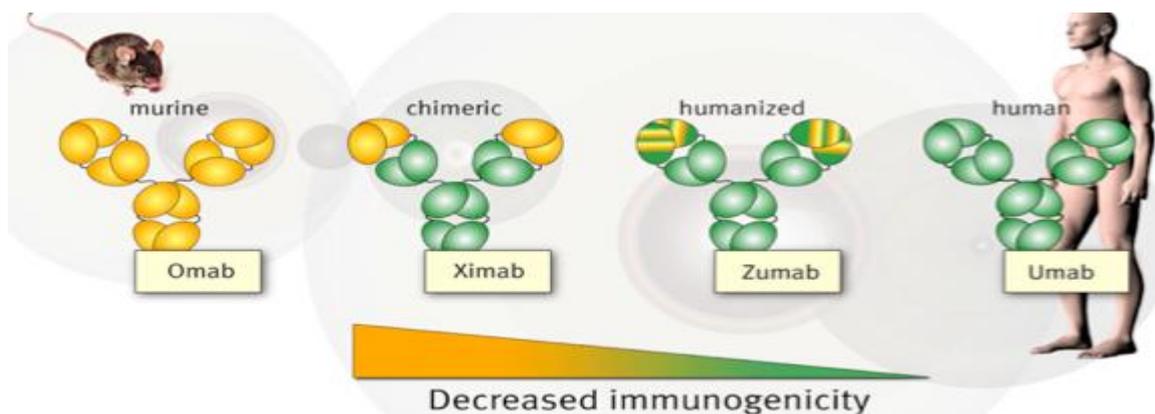


Figure 4 : Différentes générations d’anticorps thérapeutiques (2).

Tableau I: Nomenclature internationale simplifiée des différentes catégories d’anticorps monoclonaux (Scheen, 2009).

Type d’anticorps	Suffixe	% humain	Antigénicité	Quelques exemples
Murins	«momab»	0	+++	Muromomab (Orthoclone®) Ibridomomab (Zevalin®)
Chimériques	«ximab»	60-70	+	Infliximab (Remicade®) Rituximab (Mabthera®)
Humanisés	«zumab»	> 90	± 0	Trastuzumab (Herceptin®) Bévacizumab (Avastin®)
Humains	«mumab»	100	± 0	Adalimumab (Humira®)

Tableau II : Nomenclature internationale détaillée des différents types d’anticorps monoclonaux, tenant également compte de la cible potentielle (Scheen, 2009).

Préfixe	Cible	Source	Suffixe
Variable	-o(s)-	Os	-u- Homme
	-vi(r)-	Virus	
	-ba(c)-	Bactérie	
	-li(m)-	Immunitaire	-o- Souris
	-le(s)-	Infection	
	-ci(r)-	Cardio-vasculaire	-a- Rat
	-mu(l)-	Musculo-squelettique	
	-ki(n)-	Interleukine	-e- Hamster
	-co(l)-	Tumeur colique	
	-me(l)-	Mélanome	-i- Primate
	-ma(r)-	Tumeur mammaire	
	-go(t)-	Tumeur testiculaire	-xi- Chimérique
	-go(v)-	Tumeur ovarienne	
	-pr(o)-	Tumeur prostatique	-zu- Humanisé
	-tu(m)-	Tumeurs diverses	
-neu(r)-	Système nerveux	-axo- Hybride	
-tox(a)-	Toxine comme cible	rat/murin	

III. Technique permettant de la production des anticorps monoclonaux

III.1. Obtention des Anticorps murins

III.1.1. Technique d’hybridome

Dans la technique de base, la production des Ac monoclonaux se déroule en deux étapes principales, à savoir, la production *in vivo* (immunisation) de cellules lymphoïdes sécrétant des Ac, leur hybridation et la sélection *in vitro* d’un hybridome producteur d’Ac, puis la multiplication de clones de l’hybridome, soit *in vitro*, soit *in vivo*, afin d’obtenir de grandes quantités d’Ac (03).

- Obtention et sélection des hybridomes

L’antigène contre lequel on veut préparer des Ac est injecté à l’animal avec ou sans adjuvant. Des injections de rappel et des saignées d’essai sont réalisées, ces dernières visant à

Vérifier qu'il y a production d'Ac spécifiques dirigés contre l'antigène d'intérêt. Les cellules lymphoïdes de la rate ou des ganglions lymphatiques de l'animal sont isolées. Elles sont ensuite fusionnées, en présence de polyéthylène glycol, avec des cellules myélomateuses préalablement cultivées et sélectionnées *in vitro* pour leur déficience en hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase (HGPRT⁻) ou, plus rarement, en thymidine kinase (TK). Le mélange de toutes ces cellules (hybrides et cellules parentales) est placé sur un milieu de culture sélectif appelé milieu HAT (Hypoxanthine, Aminoptérine et Thymidine) (Siberil et *al.*, 2005).

La sélection par le milieu HAT dépend du fait que les cellules de mammifères peuvent synthétiser les nucléotides par deux voies différentes : la voie de novo et la voie de récupération. La voie de novo, dans laquelle un groupe méthyle est transféré à partir d'une forme activée du tétrahydrofolate, est bloquée par l'aminoptérine, qui est un analogue de l'acide folique. Lorsque la voie de novo est bloquée, les cellules utilisent la voie de récupération, qui contourne le blocage par l'aminoptérine en incorporant directement les purines et les pyrimidines dans les nucléotides nécessaires à la synthèse du DNA et du RNA. Les enzymes qui catalysent la voie de récupération incluent HGPRT et TK. Une mutation de l'un ou l'autre de ces deux enzymes bloque la capacité de la cellule à utiliser la voie de récupération et entraîne sa mort dans le milieu HAT.

Dans la technologie des hybridomes, les cellules de myélome utilisées sont, en fait, des doubles mutants. Comme mentionné précédemment, elles n'ont pas l'enzyme HGPRT. Elles ont aussi perdu la capacité de produire des immunoglobulines (mutants Ig⁻). En utilisant des mutants Ig⁻, on s'assure que les Ac produits par l'hybridome ne sont codés que par les cellules spléniques et que les cellules de myélome n'apportent que leur propriété d'immortalité aux cellules résultant de la fusion. L'autre partenaire de la fusion est habituellement une population de cellules spléniques contenant des cellules B HGPRT⁺ activées par l'antigène (Ig⁺).

Ces cellules contribuent à la capacité des hybridomes à utiliser la voie de récupération de l'hypoxanthine, ce qui rend ainsi possible leur survie dans le milieu HAT. Quant aux lymphocytes B non fusionnés, ils disparaissent au bout de quelques jours, car ils sont incapables de se répliquer *in vitro*. De même, si des hybrides se forment entre cellules B ou entre cellules de myélome, ils disparaissent spontanément.

- Production des anticorps monoclonaux

Les hybridomes qui produisent les Ac monoclonaux désirés sont sélectionnés et ensuite clonés. On peut alors multiplier les clones positifs (producteurs de l'Ac d'intérêt) soit en continuant de les cultiver *in vitro*, soit en utilisant l'animal immunisé pour une production *in vivo*.

Lorsqu'un hybridome est cultivé dans des flacons de culture de tissu, l'Ac est sécrété dans le milieu, habituellement à de très faibles concentrations (1-20 µg/mL). Un hybridome introduit par injection dans la cavité péritonéale d'une souris compatible s'y développe et sécrète l'Ac monoclonal dans le liquide d'ascite à des concentrations beaucoup plus élevées (habituellement, 1-10 mg/mL environ).

L'Ac peut être ensuite purifié par chromatographie du liquide d'ascite. Pour répondre à la demande croissante d'Ac monoclonaux, des techniques de croissance *in vitro* des cellules d'hybridomes à de très hautes densités ont été développées (Goldsby *et al.*, 2003).

Les animaux, souris ou rats, utilisés à la fois pour l'immunisation en vue de la préparation du clone d'hybridome et pour la production subséquente d'Ac monoclonaux (production *in vivo*), doivent être de même souche (syngéniques) pour des raisons d'histocompatibilité.

Les souris Balb/c sont le plus souvent utilisées, car, de surcroît, les cellules myélomateuses parentales employées dans le processus de fusion proviennent souvent de ces souris. Une alternative est d'avoir recours aux souris SCID (syndrome d'immunodéficience sévère combinée) qui, bien que coûteuses, produisent moins d'Ac murins non spécifiques avec un rendement équivalent d'Ac monoclonaux spécifiques, ce qui a pour effet de faciliter la purification de ces derniers (Leenaars et Hendriksen, 2005 ; Campbell, 1996).

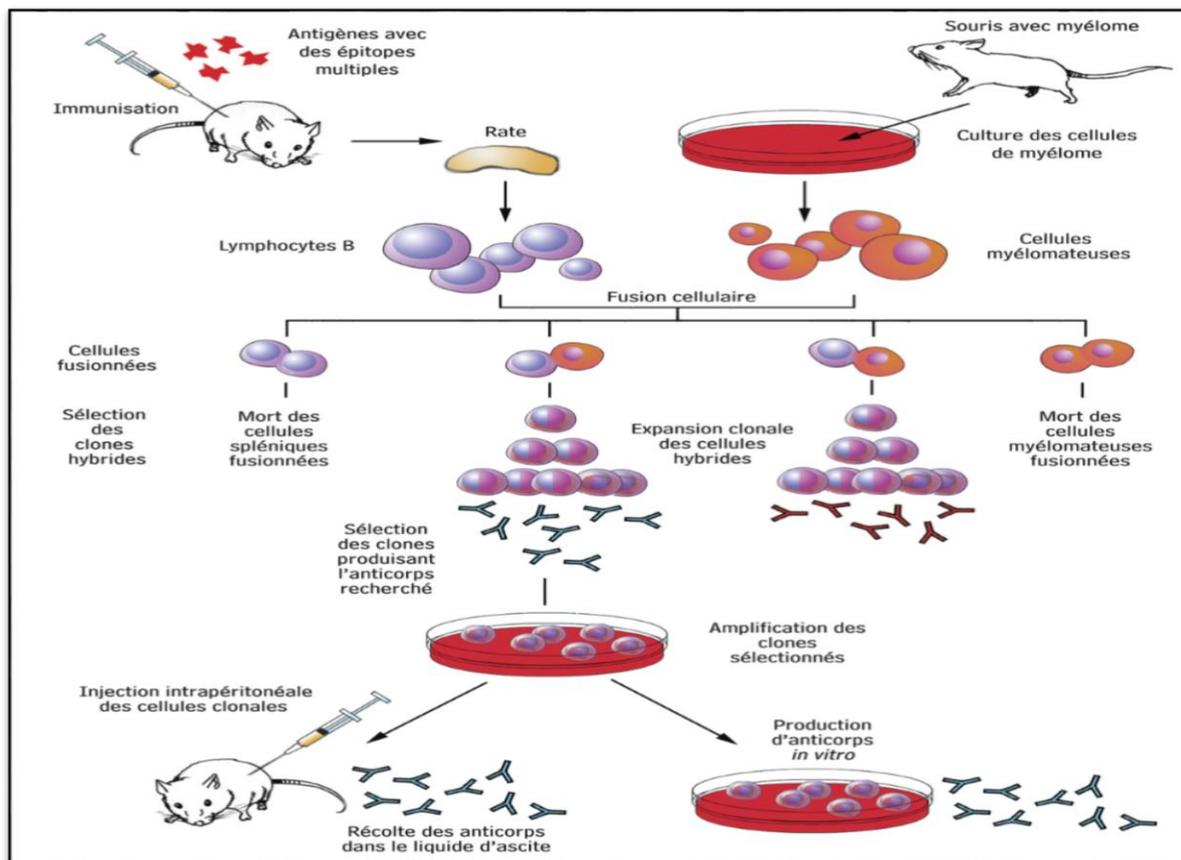


Figure 5: Technique des hybridomes(04).

III.2. Obtention des Anticorps chimériques et humanisés

III.2.1. Construction d'anticorps chimérique

Les modifications des anticorps monoclonaux par génie génétique ont débuté peu après leur découverte et se sont accentuées avec l'apparition de la PCR. Il est devenu possible de manipuler les gènes des anticorps de façon à créer des anticorps hybrides souris–homme afin de réduire la réponse HAMA (Clark, 2000). Une autre conséquence de la substitution d'un fragment Fc murin par un fragment humain est une cytotoxicité accrue due à une interaction de meilleure affinité avec les récepteurs FcγR présents sur les cellules effectrices des patients.

La première approche a donc consisté à fusionner des domaines variables d'un anticorps de souris (VL et VH) aux régions constantes d'immunoglobulines humaines (CL et CH1-CH2-CH3) de façon à obtenir des anticorps recombinants dits chimériques (Hoogenboom et *al.*, 1996).

III.2.2. Construction d'anticorps humanisés

La substitution de régions hypervariables d'Ac monoclonaux de souris ou de rat aux régions hypervariables de domaines VH et VL humains («Complementarity Determining Regions (CDRs) grafting») permet d'obtenir des Ac humanisés. Ces Ac sont, a priori, très peu immunogènes chez l'Homme, car seules les régions hypervariables sont d'origine murine. La difficulté ne réside pas tant dans le découpage et la substitution des régions hypervariables de l'Ac murin, que dans le choix des domaines VH et VL humains sur lesquels ces régions hypervariables vont être insérées. L'humanisation requiert également une analyse détaillée de la séquence primaire des domaines variables de l'Ac murin afin d'identifier les acides aminés impliqués dans la formation et/ou la stabilité du site de liaison à l'Ag, et notamment ceux éventuellement situés dans les régions charpentes. Des boucles hypervariables d'Ac de souris possédant des spécificités anti-CD52, anti-IL2R ou anti-HER ont été ainsi greffées sur la région charpente d'une chaîne lourde humaine. En général, la structure du site de liaison est conservée et l'affinité est proche de celle de départ. La plupart des Ac monoclonaux chimériques et humanisés contiennent une région Fc dérivée d'une IgG1 humaine, l'Ig qui possède les caractéristiques et les fonctions les plus intéressantes pour l'immunothérapie (Scheen et Moutschen, 2009).

III.3. Obtention des Anticorps entièrement humain

III.3.1. Technique de Phage display

Le «phage display» est une technique de sélection in vitro permettant d'obtenir des Ac totalement humains à partir de banques combinatoires construites avec des domaines à la fois variables et constants humains. Les domaines spécifiques contre l'antigène d'intérêt sont fusionnés aux régions constantes d'IgG humaines pour générer des Ac humains complets (Scheen, 2009).

La présentation de peptides à la surface de phages filamenteux a été démontrée pour la première fois par Georges Smith en 1985. Les phages filamenteux sont utilisés pour présenter à leur surface, en fusion avec le domaine amino-terminal de leurs protéines pIII ou pVIII, des molécules telles que des peptides aléatoires, des fragments d'anticorps (Fab, Fv ou scFv single chain F) ou d'autres protéines (figure 1A).

Les phages recombinants sont sélectionnés pour leur capacité de liaison à une cible (figure 2). Après de nombreux lavages, les phages fixés sont élués puis isolés et amplifiés par infection de bactéries. Les phages amplifiés sont sélectionnés à nouveau sur la même cible. Après 3 à 4 tours de sélection-amplification, les phages sélectionnés sont analysés et testés pour l'activité recherchée.

Des pressions de sélection différentes peuvent être introduites à chaque tour ainsi qu'une diversité additionnelle par mutagenèse. Cette stratégie fondée sur la sélection est nettement plus puissante qu'une stratégie de criblage classique qui nécessite de nombreuses manipulations. Il est en effet possible de cribler 10^6 à 10^{10} molécules recombinantes différentes dans un volume réduit de quelques microlitres.

De plus, l'association de la protéine exposée en surface (phénotype) avec son ADN codé par le phage (génotype) permet d'accéder rapidement aux séquences des molécules sélectionnées car l'ADN est directement isolé avec la protéine pour laquelle il code. Cette méthode est très efficace puisqu'il est possible de sélectionner un phage dont la fréquence était de $1/10^8$ dans la banque originale. Le nombre croissant de publications apparues ces dernières années indique que la technologie du phage display représente un outil performant pour de très nombreuses applications (Christelle *et al.*, 1998). Plusieurs champs d'applications ont été exploités dans le cadre de la technique du phage display mais l'application qui reste, tout de même, principale est la construction de banques combinatoires de fragments d'anticorps. En effet, leurs domaines variables peuvent être exprimés dans des phages sous forme de fragments Fab ou sous forme de scFv. La production d'anticorps monoclonaux est rendue possible grâce à cette technique surtout quand celle-ci n'est pas possible par la technique de l'hybridome pour des raisons techniques ou éthiques (Professeurs Marie-Paule *et al.*, 2013).

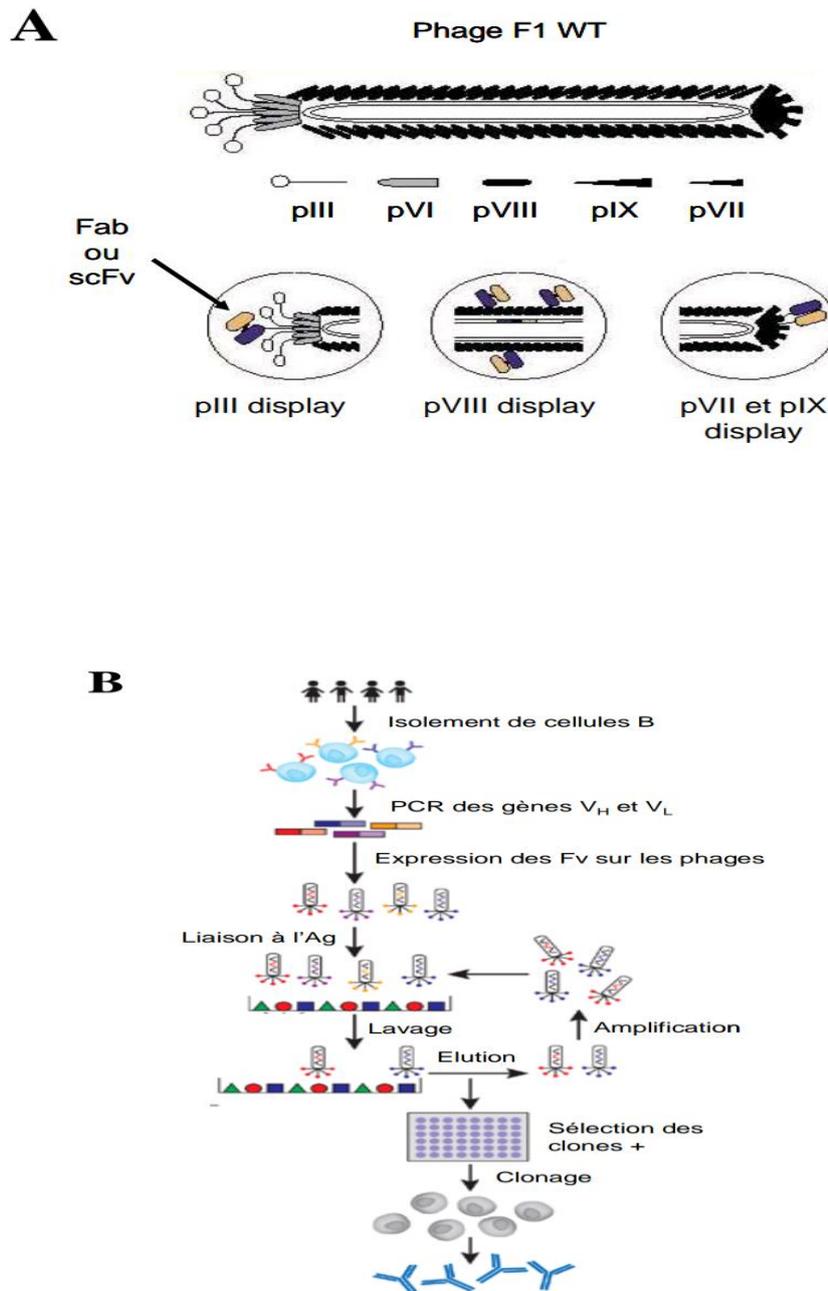


Figure 6 : Technique du phage display (Virginie, 2009).

III.3.2. Utilisation de lymphocytes B humains

La production d'anticorps monoclonaux totalement humains est basée sur l'obtention et la purification de lymphocytes B humains. Ces lymphocytes B humains proviennent de donneurs humains. Deux types de donneurs humains sont utilisés :

- 1) des donneurs ayant déjà été en contact avec l'antigène, appelés les donneurs immunisés/infectés ou encore vaccinés,
- 2) des donneurs n'ayant jamais été en contact avec l'antigène, appelés des donneurs naïfs.

- Principe :

Récupérer du sang de donneurs, purifier et sélectionner les lymphocytes B humains, les fusionner avec un partenaire cellulaire de type myélome, ou un partenaire viral. La clonalité et la spécificité sont obtenues comme dans le cas de la production d'anticorps murins par des étapes supplémentaires de clonage par dilution limite et de criblage. La production des anticorps humains peut directement être initiée sur les lymphocytes B. Toutefois, la durée de vie d'un lymphocyte B est courte et les lymphocytes B ne se multiplient pas *in vitro*. C'est pour cela que dès 1970, des essais pour stabiliser les lymphocytes B humains ont porté sur les possibilités de fusionner ou d'immortaliser des lymphocytes B humains avec un partenaire cellulaire de type myélome. Contrairement à la technique des hybridomes chez la souris, des difficultés pour fusionner et stabiliser les lymphocytes B humains sont apparues. D'autre part, peu de myélomes humains sont disponibles et adaptés à la fusion avec des lymphocytes B humains. L'immortalisation avec un virus, le virus Epstein-Barr (EBV) a également été utilisé. L'EBV est un herpès virus qui possède la capacité de transformer ou d'«immortaliser» les lymphocytes B humains provoquant l'expansion clonale permanente de ces cellules. Pour améliorer le rendement et la stabilité, l'immortalisation peut être couplée à une étape supplémentaire de fusion. L'utilisation du virus d'Epstein-Barr (EBV) s'est révélée relativement efficace. Cette stratégie a permis de générer des anticorps monoclonaux contre divers antigènes (virus, toxines...). Quelques exemples très marquants, l'obtention d'anticorps humains contre le SRAS ou contre H1N1 par l'équipe de Lanzavecchia en 2002 et 2004 à partir de lymphocytes de donneurs ayant déjà rencontré la cible. Les inconvénients majeurs de cette technique résident dans le faible rendement de l'étape d'immortalisation et dans la difficulté à stabiliser les lymphocytes B immortalisés.

Récemment pour pallier ce problème, l'addition de séquences oligonucléotidiques immunostimulatrices CpG pendant l'immortalisation a permis d'augmenter l'efficacité d'immortalisation et la stabilité des clones. De même, l'association de la technique d'immortalisation avec celle de la fusion, impliquant des partenaires humains de fusion augmente la probabilité d'immortalisation et la stabilité des clones.

De plus, même si l'utilisation de lymphocytes B humains permet de disposer a priori de l'ensemble du répertoire immunologique, l'obtention d'anticorps monoclonaux spécifiques

D'une cible est grandement favorisée lorsque les lymphocytes B proviennent d'individus immunisés/vaccinés. On peut alors sélectionner des lymphocytes B mémoires mais cela peut se révéler difficile à réaliser dans le cas de pathogènes très virulents ou peu répandus (Toxine Charbonneuse, Bacillus Anthracis, Yersinia Pestis, VIH, Ricine, ...).

Ainsi, des stratégies d'immunisations in vitro utilisant des lymphocytes B naïfs ont été développées. Ces stratégies permettent d'obtenir des anticorps humains contre n'importe quelle cible y compris des cibles pour lesquelles des lymphocytes B immunisés ne seraient pas disponibles. Avec l'immunisation in vitro, il est difficile d'obtenir des anticorps de haute affinité.

C'est pour cela que divers protocoles d'immunisation in vitro ont été développés. D'autre part, la majorité des anticorps obtenus par cette voie sont des IgMs (Figure 7).

L'obtention d'anticorps humains grâce à l'utilisation de lymphocytes B humains reste pour le moment au stade de la recherche et nécessite diverses mises au point. Cependant, cette stratégie ouvre des perspectives intéressantes notamment dans le cadre de l'immunisation in vitro (Mazhoua, 2012).

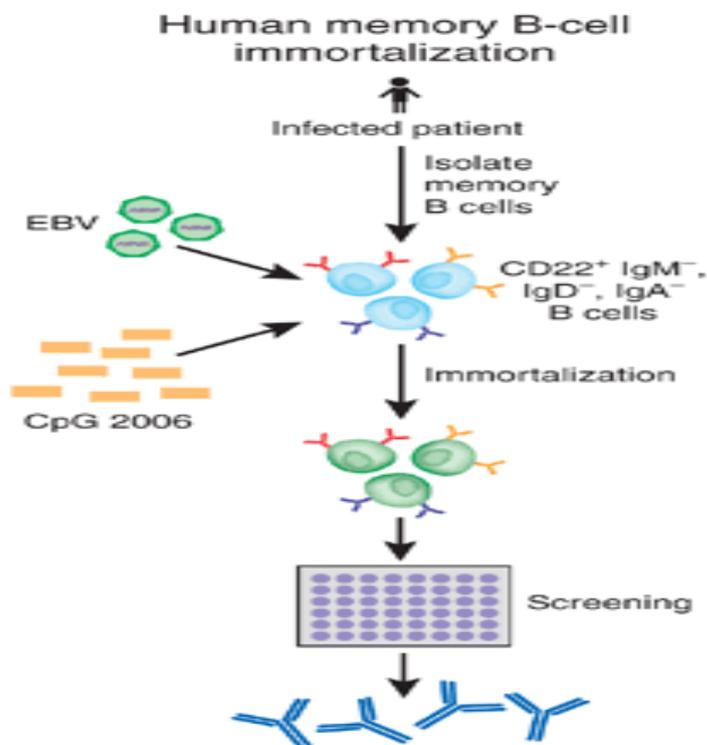


Figure 7 : Immortalisation des cellules B mémoires humaines (Virginie, 2009).

III.3.3. Technique de souris transgénique

L'obtention de souris transgéniques contenant une grande partie des gènes codant pour les chaînes lourdes et légères humaines. Cette approche consiste à remplacer les Loci des gènes d'immunoglobulines (Ig) de souris par les loci équivalents humains en utilisant des fragments d'ADN génomique humain, contenus dans des Yeast Artificial Chromosomes (YACs). Des souris dont une grande partie des loci IgH et Igk avait été inactivée et des souris transgéniques contenant une partie des Loci d'Ig humaines ont été générées et croisées. Il a été alors montré que les souris issues de ce croisement produisent des anticorps humains de type IgM, ou IgG lors de réponses secondaires, indiquant que les fragments introduits permettent un certain degré de commutation de classe. De plus, l'analyse des AcM obtenus a montré que des mutations somatiques affectaient les régions variables indiquant l'existence d'une maturation apparemment correcte de la réponse anticorps. Ces souris permettent ainsi de générer des AcM humains de haute affinité contre n'importe quel antigène. Une approche fondée sur l'introduction de fragments chromosomiques humains entiers (technologie « transchromosomique », Tc) a été également développée. Des souris invalidées en ce qui concerne leurs Loci IgH et Igk ont été rendues double-transchromosomique par introduction de fragments dérivés des chromosomes humains 14 et 22 contenant respectivement le Locus IgH et le locus IgK. Cela a permis de générer des souris dont un certain nombre de cellules somatiques contiennent 100% des gènes codant les chaînes lourdes et les chaînes légères κ humaines. Ces souris produisent des quantités élevées d'IgG humaines en réponse à différents immunogènes. Des anticorps monoclonaux humains peuvent être obtenus alors par la technique classique d'obtention d'hybridomes B (Xiao-Dong et *al.*, 2001).

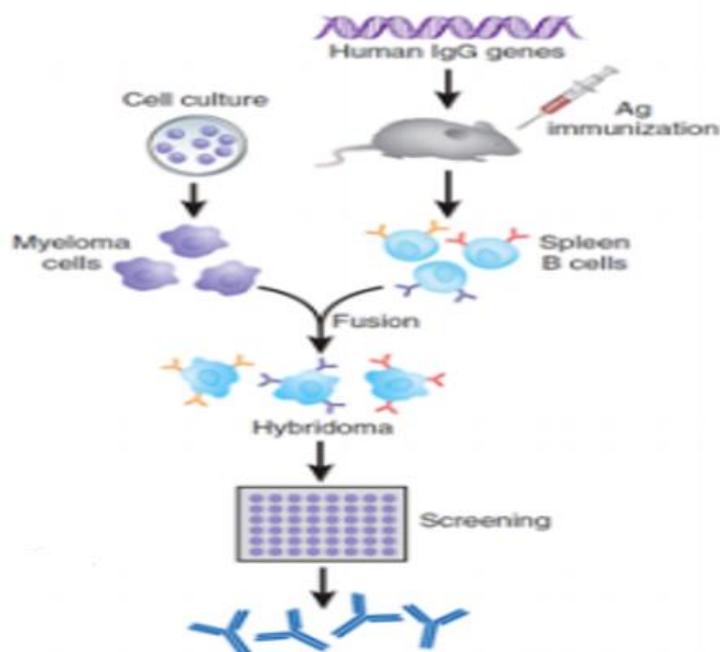


Figure 8: Technique de souris transgénique (Michel et *al.*, 2009).

III.3.4. Technique de Ribosomes display

D'autres approches de sélection de fragments d'anticorps, moins répandues, ont été également décrites : le « ribosome display » est fondé sur la production d'ARNm d'une banque de scFv, transcrits et traduits *in vitro* dans un système acellulaire. Cette bibliothèque de scFv est caractérisée par l'absence de codon stop aux extrémités 3' des régions codantes. Lors de la traduction, l'absence de codon stop provoque l'apparition de complexe mRNA/ribosome/scFv, qui vont directement se fixer sur une cible immobilisée par l'intermédiaire du fragment Fv néo-synthétisé. L'ARN codant le scFv spécifique de l'antigène est ainsi isolé et des nouvelles mutations sont apportées lors de la reverse transcription afin de le favoriser, après plusieurs cycles, l'obtention de fragment Fv de haute affinité. La technique du « phage display » et plus récemment celle du « ribosome display » ont permis de d'obtenir des fragments d'anticorps qui possèdent pour l'antigène une affinité extrêmement forte surpassant, pour la plupart, les affinités mesurées avec les AcM conventionnels (Hiroyuki et *al.*, 2007).

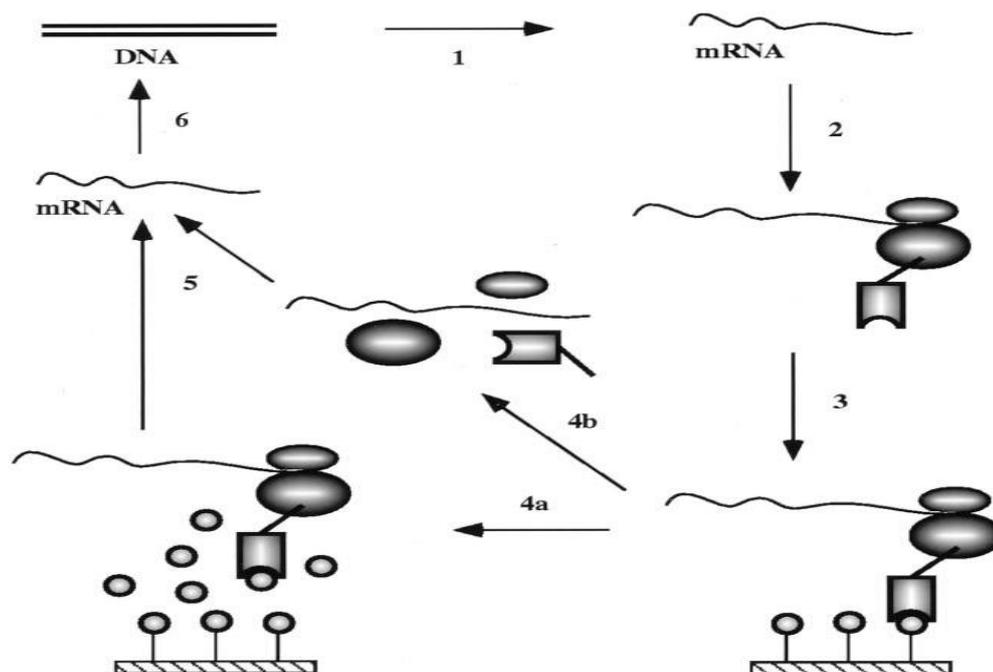


Figure 9 : Bibliothèque de scFv est transcrite et traduite in vitro (Christiane et *al.*, 1999).

IV. Pharmacologie des anticorps monoclonaux

IV.1. Propriétés pharmacocinétiques des anticorps monoclonaux

Le devenir des anticorps monoclonaux (Acm) dans l'organisme et la relation entre la concentration et l'effet in vivo sont encore mal connus. Les données de leur pharmacocinétique (PK) sont de ce fait insuffisamment utilisées et le choix de la dose thérapeutique à administrer difficile à préciser. Le devenir de l'Acm dans l'organisme dépend de sa distribution et de son élimination ; ces paramètres sont influencés entre autres par la structure de l'Acm (Fab ou présence d'une portion Fc humaine), l'expression du récepteur néonatal de la portion Fc (FcRn), qui permet la protection des Acm contre la dégradation mais joue également un rôle important dans l'ensemble de leur PK, la fixation des Acm sur leur antigène cible (rôle de la masse antigénique) responsable d'une PK dose-dépendante, l'immunisation des patients traités. Tous ces paramètres, sources de variabilité pharmacocinétique interindividuelle, mériteraient d'être mieux intégrés dans l'adaptation posologique individuelle.

Comme pour les médicaments « classiques », la pharmacocinétique (PK) des Acm est étudiée lors des phases initiales de leur développement clinique (phases I et II). Cependant, pour de nombreux Acm actuellement sur le marché, la relation entre la concentration et

L'effet *in vivo* est mal connu et les données de PK sont insuffisamment utilisées lors du choix des doses à administrer. Une meilleure connaissance de la PK est donc une étape indispensable de l'optimisation de l'utilisation thérapeutique des Acm. Ce besoin d'amélioration du schéma posologique est particulièrement net en cancérologie. Il y a au moins deux raisons à cela : d'une part, au moment de la mise sur le marché, la connaissance de l'Acm est souvent incomplète car son développement clinique a été accéléré compte tenu de la gravité de la pathologie. D'autre part, une influence de la masse tumorale sur la PK des Acm a été décrite. Si ces données sont confirmées, ce facteur pourra être pris en compte pour améliorer l'adaptation posologique individuelle (Gilles, 2009).

IV.1.1. Devenir des anticorps monoclonaux dans l'organisme

Les Acm sont des protéines de haut poids moléculaire, caractérisées par leur hydrophilie. Bien que leur devenir dans l'organisme soit différent de celui des médicaments classiques, on peut décrire des phases d'absorption, de distribution et d'élimination.

IV.1.1.1. Absorption

La majorité des Acm est administrée par voie intraveineuse (IV), ce qui permet l'injection de larges volumes et une exposition systémique rapide et complète. Cependant, certains d'entre eux tels que l'Adalimumab, l'Omalizumab et le Palivizumab sont administrés par voie sous-cutanée (SC) ou intramusculaire (IM). En général, après administration SC, les macromolécules d'une taille supérieure à 16kDa sont majoritairement absorbées par le système lymphatique alors que celles d'une taille inférieure à 2 kDa sont majoritairement absorbées par les vaisseaux sanguins. Cependant, le mécanisme d'absorption des IgG après administration SC est encore incertain car il n'a jamais été directement étudié. Le FcRn pourrait jouer un rôle dans l'absorption SC des Acm car, dans un modèle de souris invalidée pour le FcRn, la fraction absorbée était beaucoup plus faible (28 %) que chez les souris non mutées (83 %). Après administration SC chez l'homme, l'absorption des Acm est lente, avec un pic de concentration survenant cinq à dix jours après l'injection, et la fraction absorbée représente en moyenne de 50 à 100 % de la dose injectée. Un des inconvénients de ces voies, SC ou IM, est qu'elles ajoutent une source supplémentaire de variabilité PK (Gilles, 2009).

IV.1.1.2. Distribution

Les études de distribution (souvent appelée bio distribution) des Acm ont pour objectifs d'analyser la spécificité de leur ciblage tissulaire ainsi que d'identifier les principaux organes d'élimination.

- Echanges tissus-plasma

Par leur grande taille et leur caractère hydrophile, les IgG ont une faible pénétration tissulaire et sont essentiellement confinées dans la circulation sanguine et les liquides extracellulaires. Dans beaucoup de tissus, les concentrations d'IgG libres sont environ dix fois plus faibles que celles qui sont mesurées dans le plasma. Cependant, des concentrations plus élevées sont observées dans les tissus ayant une vascularisation fenestrée comme la moelle osseuse et la rate. Comme nous l'avons décrit plus haut, le FcRn permet le passage des Acm à travers le placenta.

Le FcRn est fortement exprimé par l'endothélium du système nerveux central (SNC) et par les plexus choroïdes. Plutôt que de transporter les IgG vers le SNC, le FcRn est probablement responsable d'une Transcytose des IgG du SNC vers la circulation. Une étude chez le singe a montré qu'après administration IV, le Rituximab était mesuré dans le liquide céphalo-rachidien à des concentrations mille fois plus faibles que celles mesurées dans le sang. Dans la même étude, le Rituximab administré par voie intrathécale était rapidement éliminé du liquide céphalorachidien et mesurable dans le sérum. Le rôle du FcRn dans cet efflux des IgG reste cependant à confirmer (Gilles, 2009).

- Ciblage tissulaire

Dans le traitement du cancer, le ciblage thérapeutique est particulièrement important. On étudie souvent la distribution dans les tumeurs et dans les tissus sains en utilisant des Acm marqués par un radio-isotope. Ces études sont cependant peu informatives car la dégradation par les protéases de l'anticorps marqué complique l'interprétation des résultats. La méthode de référence pour étudier la distribution tissulaire est l'étude de la réactivité tissulaire croisée dans laquelle la fixation de l'Acm sur différents tissus humains et animaux est analysée. La relation entre l'affinité d'un Acm pour son antigène et sa concentration dans la tumeur est complexe : en effet, l'intensité de la captation tumorale peut être inversement proportionnelle à l'affinité de l'Acm pour son antigène cible. Ce phénomène appelé «barrière du site de fixation » s'explique par la rétention de l'Acm par les antigènes cibles présents en périphérie, avec pour conséquence une mauvaise pénétration de l'Acm dans le tissu. Cependant, ce phénomène peut en théorie être surmonté par une augmentation de la dose d'Acm. Les Fab et les fragments simple chaîne Fv d'anticorps(ScFv) pénétreraient mieux dans les tissus que les Acm complets mais leur rapide élimination de l'organisme pourrait contrebalancer cette meilleure distribution.

Après administration IV, les concentrations sériques d'Acm décroissent généralement de façon bi-exponentielle : une phase de décroissance rapide (correspondant à la distribution) précédant une phase de décroissance plus lente (correspondant à l'élimination). Dans ce cas, les concentrations d'Acm peuvent être décrites à l'aide d'un modèle PK à deux compartiments » : un compartiment central, correspondant habituellement au sang circulant et aux milieux dans lesquels la concentration s'équilibre rapidement avec celle du sang, et un compartiment périphérique, correspondant aux milieux dans lesquels la concentration s'équilibre plus lentement. Cependant, lorsque l'Acm est éliminé de façon significative par la fixation sur sa cible, son volume de distribution est difficile à estimer par les méthodes conventionnelles (Gilles, 2009).

IV.1.1.3. Élimination

L'élimination des IgG se fait essentiellement par catabolisme intracellulaire, une fois qu'elles ont été captées dans la cellule par pinocytose (endocytose de phase liquide) ou endocytose secondaire à leur fixation sur leur cible ou sur un récepteur (Gilles, 2009).

- Pinocytose

Comme les autres protéines circulantes ou présentes dans le liquide interstitiel, les IgG sont captées par pinocytose (*cell drinking*) mais le FcRn les protège contre la dégradation. Lorsque les concentrations d'IgG sont élevées, le FcRn peut être saturé : chez des patients ayant un myélome, qui ont des concentrations sériques d'IgG pouvant approcher 100 mg/ml, la $t_{1/2}$ de ces IgG est raccourcie à 8-10 jours au lieu des 21 jours dans le cas d'une concentration normale d'IgG. Inversement, chez les patients ayant des concentrations très faibles d'IgG, cette $t_{1/2}$ peut atteindre 70 jours ou plus. La portion Fc des IgG est impliquée dans leur fixation au FcRn et donc dans leur $t_{1/2}$ prolongée. Les fragments d'anticorps tels que les Fab ou les F(ab)₂ ont une $t_{1/2}$ plus courte et une clairance plus élevée que les anticorps complets correspondants. L'Abciximab, qui est un fragment Fab d'un Acm chimérique anti-CD41, a une très courte $t_{1/2}$ de 20-30 minutes dans le sérum et de 4 heures dans les plaquettes. Les $t_{1/2}$ des fragments Fc sont similaires à celles des IgG complètes (Gilles, 2009).

- Élimination après fixation sur leur cible ou sur un récepteur

L'endocytose de l'Acm peut être l'étape suivant sa fixation, par ses domaines Fab, sur son antigène cible la surface d'une cellule. Lorsque ce phénomène est prépondérant, on parle d'élimination cible dépendante (*target-mediated drug disposition*). L'élimination cible dépendante est saturable puisqu'il y a un nombre fini de cibles. La PK devient alors dose

Dépendante, ce qui s'exprime par une élimination plus rapide pour les faibles doses (clairance plus élevée et $t_{1/2}$ plus courte). Cette dose-dépendance a été décrite pour le Bévacizumab, le Cétuximab et plusieurs autres Acm anticancéreux mais elle n'est pas toujours pertinente aux doses thérapeutiques utilisées.

Les Acm pourraient également être internalisés après fixation de leur portion Fc sur un récepteur Fc γ présent à la surface de la cellule. Cependant, ce mécanisme concernerait principalement les complexes immuns (Gilles, 2009).

IV.1.2. Variabilité PK interindividuelle

IV.1.2.1. Conséquences de la variabilité PK

Une partie de la variabilité interindividuelle de réponse thérapeutique aux Acm est expliquée par la variabilité de l'exposition individuelle. Cette variabilité PK, observée pour tous les Acm, est pertinente en clinique puisque les concentrations sériques d'anticorps influencent la réponse thérapeutique (Gilles, 2009).

IV.1.2.2. Influence des facteurs démographiques

L'influence du poids du patient sur la PK des Acm a été décrite pour de nombreux anticorps mais d'autres facteurs démographiques ou biologiques ont été identifiés : la surface corporelle influence la PK du Rituximab et le sexe influence celle du Bévacizumab, de l'Infliximab et du Rituximab. Chez les patients dont l'albuminémie est basse et les phosphatases alcalines élevées (deux indicateurs de sévérité de la maladie dans le cancer colorectal métastatique), la clairance du Bévacizumab est augmentée par rapport aux patients ayant des valeurs biologiques médianes (Gilles, 2009).

IV.1.2.3. Influence de la masse antigénique

Comme une partie de l'élimination des Acm est liée à leur fixation sur un antigène cible, la variation interindividuelle et intra-individuelle de la maladie, et donc de la masse antigénique, peut influencer la PK des Acm. Ceci est bien démontré pour l'Omalizumab, un anticorps anti-IgE, puisque la dose à administrer doit être adaptée au poids des patients et à la concentration en IgE. Chez des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde et traités par Infliximab, la CRP (*C reactive protein*) pré-thérapeutique a été utilisée comme marqueur indirect de la production de TNF- α (*tumornecrosis factor*). Les auteurs ont observé des concentrations d'Acm significativement plus faibles chez les patients ayant des concentrations pré-thérapeutiques de CRP élevées. Les études analysant l'influence de la masse tumorale sur la PK du Rituximab dans le lymphome malin non hodgkinien ont donné des résultats contradictoires, ce qui pourrait être expliqué par la difficulté à évaluer de façon

Précise la masse tumorale en pratique clinique. L'influence de la masse tumorale sur la relation dose-concentration-effet du Rituximab a été étudiée à l'aide d'un modèle murin développant un lymphome exprimant le CD20 humain (Gilles, 2009).

IV.1.2.4. Influence des anticorps induits

Le développement d'anticorps anti-Infliximab chez les patients traités par Infliximab a été bien documenté. Un des facteurs de risque de cette immunisation est le sous-dosage des patients. En effet, les concentrations d'anticorps anti-Infliximab mesurées 6 mois après le début du traitement chez des patients ayant une polyarthrite rhumatoïde étaient d'autant plus élevées que les concentrations d'Infliximab, mesurées 1 mois et demi après l'initiation, étaient faibles. La clairance de l'Infliximab est 2.7 fois plus élevée et sa $t_{1/2}$ d'élimination 34 % plus faible en présence d'anticorps anti-Infliximab. Une diminution significative des concentrations d'Adalimumab, un autre Acm anti-TNF- α , a également été rapportée chez les patients traités pour polyarthrite rhumatoïde et ayant développé des anticorps anti-Adalimumab.

L'administration d'immunosuppresseurs associés (en général méthotrexate ou Azathioprine) diminue l'incidence des anticorps anti Infliximab. Les concentrations d'Infliximab sont plus élevées chez les patients cotraités par méthotrexate. Ceci pourrait être expliqué par la diminution du risque de développer des anticorps anti-Infliximab, mais un autre mécanisme ne peut être exclu. Une étude comparative a analysé, chez des patients ayant une maladie de Cohn et traités depuis au moins 6 mois par Infliximab associé à un immunosuppresseur, l'influence de l'arrêt de l'immunosuppresseur associé sur l'efficacité du traitement. L'efficacité clinique s'est maintenue pendant les deux années de suivi mais une augmentation significative de la concentration de CRP et une baisse significative de la concentration sérique d'Infliximab a été observée dans le groupe ayant arrêté l'immunosuppresseur associé (Gilles, 2009).

IV.2. Fonctions effectrices des anticorps thérapeutiques

Les anticorps monoclonaux présentent plusieurs modes d'action à discuter.

IV.2.1. Anticorps neutralisants

Se liant à des antigènes solubles comme des toxines, cytokines ou virus, ou bien à des auto-antigènes. La liaison des anticorps à ces antigènes permet d'empêcher l'interaction entre ces molécules et leur cible cellulaire (exemple : anticorps dirigés contre le VEGF comme le Bevacizumab).

IV.2.2. Anticorps antagonistes

Ciblant des récepteurs membranaires et empêchant ainsi la liaison de leurs ligands et donc leur fonctionnement. Ce sont des anticorps anti-récepteurs de cytokines ou de facteurs de croissance (exemple : Tocilizumab utilisé contre le récepteur de l'IL-6, Cetuximab utilisé contre l'EGFR), des anticorps anti-intégrines (exemple : Efalizumab).

IV.2.3. Anticorps Cytolytiques

Exerçant une activité cytotoxique après liaison à un antigène membranaire, ce qui peut être un effet recherché ou bien un effet indésirable. La portion Fc des anticorps doit être présente, car les fragments Fab seuls n'exercent pas d'activité cytotoxique. Cette activité est liée à l'activation de la voie classique du complément par les anticorps monoclonaux ou le recrutement de molécules cytotoxiques comme les cellules NK. Elle est principalement présente lors de l'utilisation d'IgG1. Pour éviter les effets cytotoxiques, il est donc préférable d'utiliser des anticorps IgG2 ou IgG4. Certains anticorps sont également capables d'induire l'apoptose par eux-mêmes. Exemples d'anticorps cytolytiques : les anticorps Antirhésus D, le Muromonab (antiCD3, induit l'apoptose des lymphocytes T).

IV.2.4. Anticorps monoclonaux utilisés contre le TNF- α membranaire et soluble

Sont une catégorie à part, car ils exercent plusieurs de ces activités à la fois pour certains. Ils sont utilisés dans le traitement de plusieurs maladies auto-immunes dont la polyarthrite rhumatoïde (Figure 10). Dans le domaine des chimiothérapies, des techniques de couplage d'anticorps avec des toxines ou des médicaments comme le méthotrexate ont été mises au point afin de rendre les anticorps plus efficaces contre les tumeurs. Des fragments d'anticorps ont également été introduits dans des cellules tumorales pour bloquer et moduler les fonctions de protéines intracellulaires. D'autres techniques d'optimisation des anticorps monoclonaux ont été mises au point. Comme, par exemple, la transformation des anticorps par voie chimique ou génie génétique afin de les rendre bispécifiques et de réaliser des pontages, ou bien des mutations au niveau des fragments Fc afin d'améliorer les propriétés effectrices de ces anticorps, d'améliorer l'affinité contre un antigène, de diminuer leurs effets indésirables. Ces techniques d'optimisation ont à terme pour but de diminuer les doses d'anticorps nécessaires aux traitements et donc de réduire les coûts de ceux-ci, mais également de réduire les coûts de production en maîtrisant de nouveaux procédés (Bourel et Teillaud, 2006).

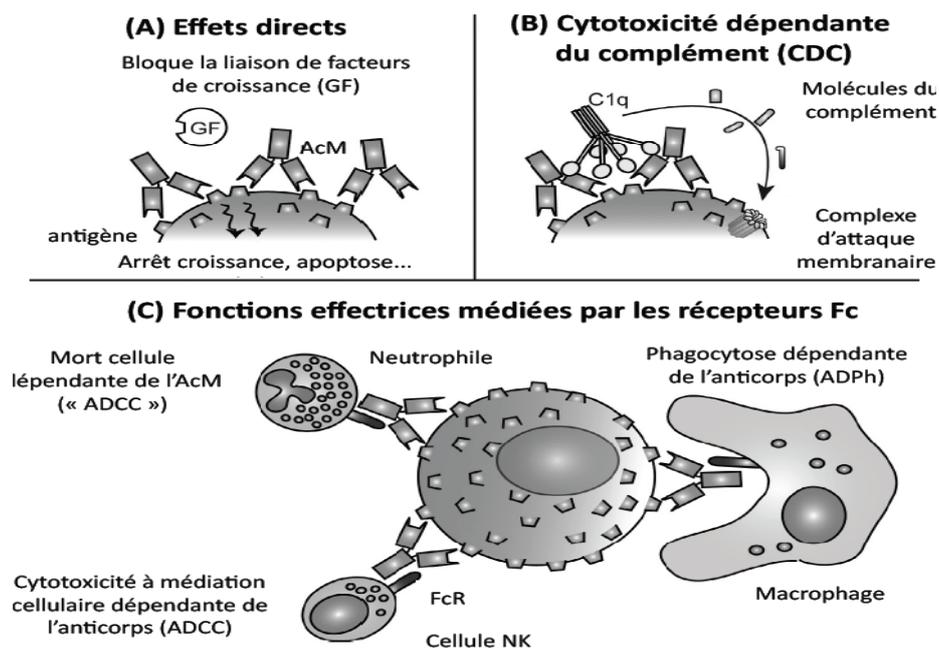


Figure 10 : Mécanismes effecteurs des anticorps monoclonaux (Aurélié, 2015).

IV.3. Nouvelles avancées dans l'utilisation des anticorps monoclonaux en thérapeutique

IV.3.1. Anticorps armés

Le principe de cette approche consiste en l'utilisation des Ac monoclonaux comme des vecteurs permettant une délivrance ciblée d'autres molécules exerçant un effet thérapeutique directement sur leurs sites d'action. S'inspirant du concept de «magic bullet» mis à l'honneur par Paul Ehrlich (Scheen et Moutschen, 2009), les Ac «armés» représentent des missiles téléguidés sur une cible bien spécifique. Il s'agit de conjuguer les Ac monoclonaux avec un isotope radioactif, une toxine, une enzyme ou un médicament. L'application la plus avancée concerne l'hémo-oncologie dans laquelle les Ac, en délivrant de façon ciblée une molécule cytotoxique, sont capables de contribuer à détruire sélectivement les cellules tumorales (Gennigens et *al.*, 2009 ; Bonnet et *al.*, 2009).

IV.3.1.1. Anticorps conjugués à des radio-isotopes

Les Ac radio-marqués permettent de réaliser une irradiation ciblée sur le site tumoral en épargnant au maximum les tissus sains (Bonnet et *al.*, 2009). Par ailleurs, cette radio-immunothérapie interne permet d'irradier les cellules tumorales présentes au voisinage de la cellule cible et n'exprimant pas l'antigène choisi par le mécanisme dit «cross fire» ou feu croisé. La radio-immunothérapie a surtout été utilisée dans le traitement des lymphomes Parce que ces tumeurs sont généralement fortement Radio-Sensibles. Pour limiter

L'exposition aux radiations, des Ac monoclonaux murins ont été choisis car leur haute immunogénicité favorise une clairance rapide du produit (Scheen, 2009). L'⁹⁰Y Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®) est composé d'un Ac dirigé contre le CD20 (Ibritumomab) et d'un radio-isotope émetteur de rayonnement B (⁹⁰Yttrium), stabilisés ensemble par un chélateur (Tiuxetan) (Mathew et Verma, 2009).

IV.3.1.2. Anticorps conjugués à une toxine (immunotoxines)

Cette approche consiste à coupler à l'Ac une toxine (diphthérique, ricine, etc.) provoquant la mort de la cellule après internalisation de la toxine (Mathew et Verma, 2009). Par exemple, un traitement faisant appel à une immunotoxine diphthérique, composée du domaine catalytique de la toxine diphthérique fusionnée à un Ac monoclonal anti-CD3, a été testé récemment avec succès dans le lymphome cutané à cellules T (Frankel et *al.*, 2009). Le Gemtuzumab Ozogamicin (Mylotarg®) est un anticorps monoclonal humanisé ciblant spécifiquement l'antigène CD33 qui se retrouve à la surface de la plupart des cellules leucémiques blastiques (Stasi et *al.*, 2008). Cet Ac est conjugué à la calicheamicin, un antibiotique cytotoxique très puissant, environ 1.000 fois plus puissant que la Doxorubicine. La calicheamicin est un membre hydrophile de la famille des antibiotiques qui clive les séquences spécifiques des doubles hélices de l'ADN. Le mécanisme d'action de ce médicament peut être résumé de la façon suivante. Le complexe Gemtuzumab Ozogamicin-calicheamicin se lie à l'antigène de surface CD33 des cellules leucémiques myéloïdes. Le complexe pénètre la cellule et la calicheamicin est ensuite libérée dans les lysosomes des cellules myéloïdes. Elle se lie à l'ADN, ce qu'entraîne une cassure de l'ADN, suivie d'une apoptose cellulaire. Le Mylotarg® a été utilisé avec succès dans le traitement de la leucémie myéloïde réfractaire à une chimiothérapie conventionnelle, chez les sujets âgés de plus de 60 ans (Stasi et *al.*, 2008).

IV.3.1.3. Anticorps conjugués à des enzymes

Le concept de générer des agents cytotoxiques au niveau même d'une tumeur à partir de Prodrogues non toxiques amenées sélectivement sur leur cible par des Ac servant de vecteurs a été développé il y a une quinzaine d'années déjà et testé, à ce moment, dans des modèles animaux (Bagshawe et *al.*, 1994). Cette technologie appelée ADEPT («Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy») procède en deux étapes : des prodrogues non toxiques sont

D'abord conjuguées à l'Ac, puis l'Ac est couplé à une enzyme qui activera, *in situ*, la prodrogue pour la transformer en un agent cytotoxique localement efficace. Cette technique permet de diminuer la toxicité générale de la drogue tout en assurant une efficacité locale maximale. Amidases, kinases, phosphatases, glycosidases, carboxypeptidases, glucuronidase et β lactamase ont été ainsi conjuguées. Dans certains cas, la prodrogue peut être activée spécifiquement par des peptidases endogènes. Les prodrogues activées dans la tumeur (TAP pour «Tumor Activated Prodrugs») sont, bien entendu, surtout développées pour être utilisées en cancérologie (Denny, 2004). Cette approche pourrait cependant aussi concerner à l'avenir les maladies infectieuses résistantes à certains antibiotiques ou encore les maladies parasitaires.

IV.3.1.4. Anticorps conjugués à un médicament

Les immunoliposomes sont des liposomes conjugués à des Ac monoclonaux (Sofou et Sgouros, 2008). Cette technologie a bénéficié des avancées conjointes dans la fabrication des liposomes et des Ac monoclonaux. Les liposomes contiennent des molécules ou des nucléotides à action thérapeutique et, grâce aux Ac monoclonaux, peuvent être téléguidés directement sur les cellules cibles, en général des cellules néoplasiques. Bien que cette approche soit encore à un stade de développement, des progrès significatifs ont été réalisés ces dernières années. Les immunoliposomes offrent l'avantage d'augmenter l'interaction locale avec la cellule cible, soit sous la forme d'une fusion avec la membrane cellulaire, soit grâce à une internalisation par endocytose, ce qui aboutit à un plus haut taux de rétention de l'agent pharmacologique (Bagshawe et *al.*, 1994). Les immunoliposomes ont été utilisés avec succès *in vivo* pour délivrer, de façon ciblée dans la tumeur, des gènes suppresseurs de la tumeur, grâce à des fragments d'Ac monoclonaux contre le récepteur humain de la transferrine, par exemple. Cette approche a été appliquée à des tumeurs cérébrales ou à des cancers du sein. Cette technique peut également être utilisée dans un but d'imagerie à visée diagnostique. Dans ce cas, les immunoliposomes sont utilisés pour acheminer de façon ciblée des agents de contraste utilisés en résonance magnétique nucléaire ou des radioéléments utilisés en médecine nucléaire (Sofou et Sgouros, 2008). Outre la technique des liposomes, d'autres approches peuvent être envisagées combinant un Ac monoclonal et une drogue active, en particulier celle faisant appel à la technique de la protéine de fusion (Senter, 2009). Ainsi, il a été rapporté récemment qu'une protéine de fusion couplant une interleukine-2

humaine et un Ac monoclonal anti-CD30 spécifique de certaines tumeurs comme les lymphomes de type Hodgkin et les lymphomes anaplasiques à grandes cellules pouvait s'avérer utile pour éradiquer de petites tumeurs résiduelles (Hirsch et *al.*, 2009).

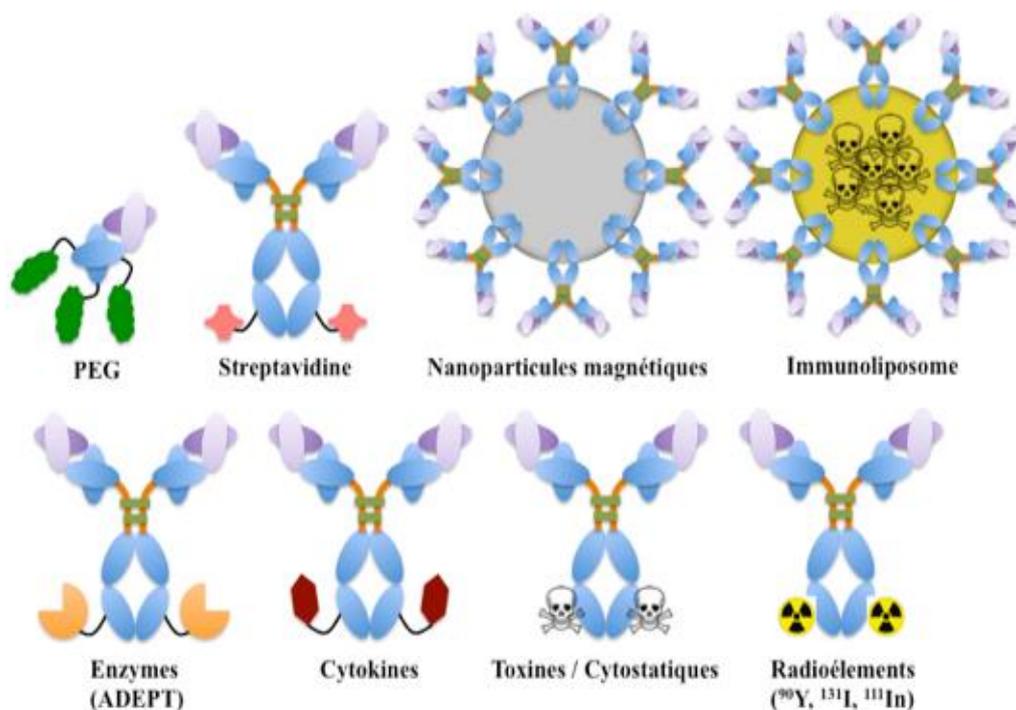


Figure 11 : Différents types d'immunoconjugués (Bertrand, 2011).

IV.3.2. Autre types d'anticorps

IV.3.2.1. Anticorps bispécifique

Un Ac naturel possède deux régions variables de même spécificité. On peut construire, par voie chimique ou par génie génétique, un Ac possédant une partie variable de spécificité A et une autre de spécificité B. L'Ac ainsi modifié pourra se fixer sur 2 molécules cibles distinctes et les ponter. La première indication a été la cancérologie. En réalisant un Ac possédant une double spécificité, par exemple un anti-CD3, d'une part, et un anti-antigène tumoral, d'autre part, on peut espérer ponter un lymphocyte activé à une cellule tumorale, entraînant la lyse de la cellule tumorale. Plusieurs Ac bispécifiques sont actuellement en étude dans plusieurs domaines thérapeutiques, notamment en cancérologie (Chames et Baty, 2009). Des travaux récents ont montré des résultats prometteurs chez la souris en utilisant un variant de l'herceptine ciblant simultanément deux antigènes bien connus dans le domaine de la cancérologie, HER-2 («Human Epidermal growth factor Receptor 2») et VEGF («Vascular

Endothelial Growth Factor») (Bostrom et *al.*, 2009). Ces Ac «deux en un» remettent quelque peu en question le paradigme de l'Ac monoclonal avec un seul site de liaison à un antigène spécifique.

IV.3.2.2. Anticorps intracellulaire

Les Ac agissent normalement dans le milieu extracellulaire : après leur synthèse, ils sont sécrétés dans les liquides extracellulaires où ils restent liés à la surface des cellules B comme récepteurs de l'antigène. Récemment, des gènes codant des Ac intracellulaires ont été conçus par génie génétique. Ceci permettrait d'utiliser des Ac dans les cellules pour bloquer la construction des virus ou des protéines nocives, telles que les oncoprotéines. Le premier exemple de cette approche a consisté à créer l'Ac F105 qui se lie à gp 120, une protéine d'enveloppe essentielle pour le VIH (Virus d'Immunodéficience Humain) (Clayton et *al.*, 2007). Cette approche devrait permettre de téléguidier l'administration de médicaments anti-rétroviraux spécifiquement dans les cellules infectées par le virus.

IV.3.2.3. Fragments d'anticorps recombinants

Cette approche consiste à utiliser des fragments d'Ac, en particulier les fragments Fab et scFv produits par la technique du «phage-display». Les fragments possèdent de nombreux avantages par rapport aux immunoglobulines complètes : ils ont un volume de distribution plus élevé, une efficacité plus rapide, un risque plus faible de réactions secondaires d'origine immune, et une élimination plus rapide. L'utilisation de ces fragments d'Ac ouvre la voie à la «nanomédecine». Ils permettent, en effet, d'amener à leurs cibles spécifiques des agents pharmacologiques de très faible poids moléculaire intégrés dans des nanoparticules, garantissant ainsi une excellente biodisponibilité, une meilleure biocompatibilité et un meilleur profil de sécurité (Debbage, 2009). Ces propriétés font d'eux des molécules adéquates pour la détoxification des substances hautement à haut pouvoir de diffusion ou de toxines de faible poids moléculaire. De plus, leur intérêt s'est amplifié pour une utilisation en cancérologie, par la possibilité de les conjuguer à des toxines, enzymes ou autres substances, ou d'obtenir des fragments bispécifiques, voire trispécifiques (multimères de fragments de scFv) (Schaedel et Reiter, 2007). Les Ac peuvent également être utilisés pour la neutralisation de toxines. Des Ac monoclonaux protégeant de la toxine produite par *Bacillus*

anthratis (Anthrax) ainsi que la neurotoxine botulique ont déjà été obtenus (Schneemann et Manchester, 2009).

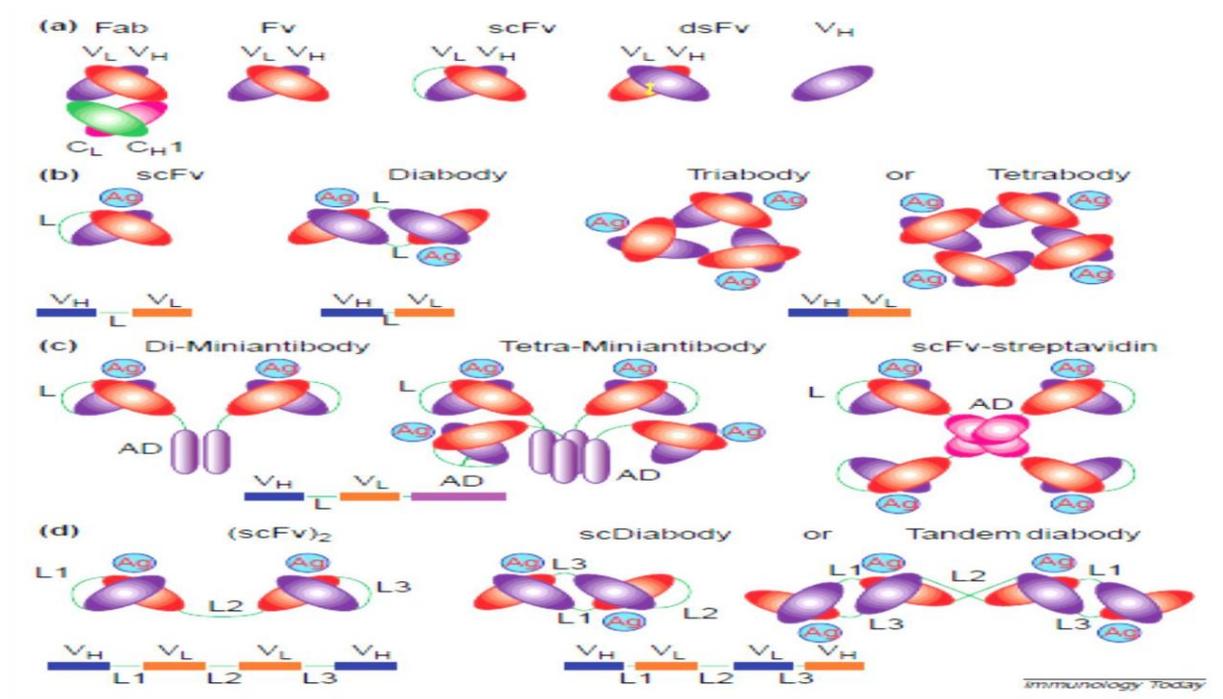


Figure 12: Représentation schématique de différents formats des fragments d'anticorps recombinants (Little *et al.*, 2000).

V. Méthodes de purifications et la commercialisation des anticorps monoclonaux

V.1. Purification des anticorps

La technique de purification la plus souvent employée est la chromatographie d'affinité. Mais, avant, on peut procéder à une séparation brute des Ig des autres protéines sériques (albumine, transferrine, etc.) par précipitation différentielle au sulfate d'ammonium. Une chromatographie d'échange ionique est aussi possible, quoique moins employée.

De plus en plus, on procède par chromatographie d'affinité avec la protéine A ou la protéine G comme ligand pour la région constante des anticorps (Fc). Ce sont des protéines de source bactérienne ayant la capacité de se fixer sur la région Fc des anticorps. Une protéine récemment découverte, la protéine L, se liant aux chaînes k de certaines classes d'anticorps, devient de plus en plus populaire.

Ensuite, pour purifier l'anticorps spécifique, on peut procéder à une chromatographie d'affinité avec l'antigène comme ligand. Seul l'anticorps contre cette protéine devrait s'attacher sur la colonne, toutes les autres protéines du sérum étant lavées dans l'éluât. On peut aussi utiliser des "peptides artificiels" ressemblant à certains épitopes particulièrement antigéniques de l'antigène (ligands peptidomimétiques) (05)

V.2. Commercialisation des anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux sont aujourd'hui des traitements en pleine expansion. Les premiers anticorps ont été utilisés à des fins thérapeutiques durant la deuxième moitié des années 1980, et les applications médicales ne cessent de progresser. En 2013, environ 35 anticorps monoclonaux étaient disponibles sur le marché, avec plus de 350 molécules en développement. Depuis 2014, 6 à 9 nouveaux anticorps monoclonaux sont mis sur le marché chaque année. En 2017, 10 anticorps devraient être approuvés afin d'être mis sur le marché, dont 9 n'ayant jamais été approuvés dans aucun pays (figure 14) ; et 52 résultats d'études devraient voir le jour (dont 20 dans le cadre du cancer) (Marion, 2017).

Tableau III : 10 Anticorps Monoclonaux en revue aux Etats-Unis et dans l'Union Européenne pour un possible mise sur le marché en 2017 (Marion, 2017).

International non-proprietary name	Indication
Ocrelizumab	Multiple sclerosis
Avelumab	Merkel cell carcinoma
(Pending)	Advanced colorectal cancer
Inotuzumab ozogamicin	Hematological malignancy
Dupilumab	Atopic dermatitis
Sirukumab	Rheumatoid arthritis
Sarilumab	Rheumatoid arthritis
Brodalumab#	Psoriasis
Guselkumab	Plaque psoriasis
Romosozumab	Osteoporosis in postmenopausal women at increased risk of fracture

En 2015, le marché mondial des anticorps monoclonaux représentait environ 85 milliards de dollars. Il devrait être multiplié par 2, voire 3, d'ici 2024.

En 2015, les 3 biothérapies (dont 2 anticorps monoclonaux) les plus vendues ont été l’Humira® (14 milliards de dollars), le rituximab (7,33 milliards de dollars) et l’insuline glargine (7 milliards de dollars).

Les anticorps monoclonaux présentent de multiples indications. Parmi les plus fréquentes, on retrouve les cancers, l’immunologie avec des maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde, l’asthme, le rejet de greffe et autres rhumatismes inflammatoires..., mais également l’ophtalmologie, l’infectiologie, la cardiologie ou certaines maladies génétiques (Figure 13) (Marion, 2017).

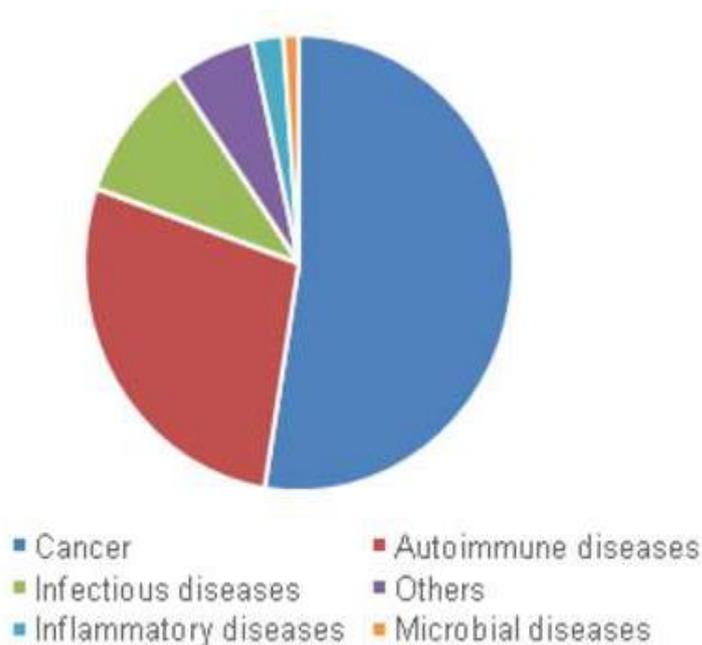


Figure 13 : Marché des anticorps monoclonaux en 2016 par indication (Marion, 2017).

Introduction

Alors que la mortalité par maladie infectieuse a diminué dans le monde occidental, le cancer y est devenu la seconde cause de mortalité, devancée seulement par les maladies cardiaques. Les estimations actuelles prévoient qu'aux Etats-Unis une personne sur trois développera un cancer et qu'une sur cinq en mourra. D'un point de vue immunologique, les cellules cancéreuses peuvent être considérées comme des cellules du soi modifiées qui ont échappé aux mécanismes normaux de régulation de la croissance. Ce chapitre examine les propriétés spécifiques des cellules cancéreuses, en accordant une attention particulière à celles pouvant être reconnues par le système immunitaire. Les réponses immunitaires qui se développent contre les cellules cancéreuses, ainsi que les méthodes par lesquelles les cancers réussissent à échapper à ces réponses.

Les différents types de cellules matures de l'organisme ont une durée de vie donnée ; lorsque ces cellules meurent, de nouvelles cellules sont générées par la prolifération et la différenciation de différents types de cellules souches. Dans des circonstances normales, la production des nouvelles cellules est régulée de telle façon que la quantité de cellules d'un types particulier demeure constante. Occasionnellement, cependant, il arrive que des cellules ne répondent plus aux mécanismes normaux de contrôle de la croissance. Ces dernières donnent naissance à des clones de cellules qui peuvent atteindre une taille considérable et conduire alors à une tumeur ou **néoplasme** (Judy et *al.*, 2014).

I. Généralités sur le cancer

I.1. Définition de cancer

Le cancer est un terme générique appliqué à un grand groupe de maladies pouvant toucher une partie quelconque de l'organisme. Les autres termes employés sont ceux de tumeurs malignes et de néoplasmes. L'une des caractéristiques définissant le cancer est l'apparition rapide de cellules anormales dont la croissance s'étend au-delà de leurs limites habituelles et qui peuvent alors envahir des zones voisines de l'organisme et se propager à d'autres organes. Il est fait référence à ce processus sous le terme de dissémination métastatique. Les métastases sont la principale cause de décès par cancer (6).

I.2. Origine du cancer

Le maintien de l'organisme humain implique la continuité des divisions cellulaires pour remplacer les cellules épuisées, réparer les tissus lésés et à assurer une protection immunitaire contre les pathogènes. On estime à 10^{16} le nombre de division cellulaire qui ont lieu dans le corps humains au cours d'une vie. Une phase préparatoire essentielle avant toute division cellulaire est la réplication de l'ADN, qui produit deux copies identiques du génome diploïde. Bien que les enzymes qui répliquent l'ADN soient extrêmement précises et que des mécanismes du type lecture d'épreuves corrigent les fautes, de rares erreurs surviennent encore. IL faut ajouter que certains changements dans l'ADN sont dus à des dommages chimiques qui échappent à la machinerie de réparation de l'ADN.

Les changements dans l'ADN, appelés mutations, comprennent la substitution, l'insertion et la délétion de nucléotides, mais aussi la recombinaison entre différents membres d'une famille de gènes ainsi que les réarrangements chromosomiques. Les mutations dans les cellules germinales (ovules et spermatozoïdes) sont à la base des variations qui permettent à l'espèce humaine de se diversifier et d'évoluer. Par contre, les mutations dans les cellules somatiques affectent uniquement l'individu chez qui elles surviennent. La plupart des mutations somatiques passent inaperçues puisque leurs effets, s'il en existe, ne se manifestent que dans une seule cellule. IL existe cependant certaines mutations qui abolissent les mécanismes de contrôle de la

Division et de la survie des cellules. Dans ce cas, la cellule mutante prolifère pour former une population croissante de cellules mutante qui finalement dérègle les fonctions physiologiques, menant ainsi aux maladies que l'on regroupe sous le nom cancer (Parham, 2003).

I. 3. Types de tumeur

Tumeur qui signifie nouvelle croissance, sont des synonymes que l'on utilise pour décrire pour un tissu dans lequel les cellules se multiplient anormalement. La branche médicale qui s'occupe des tumeurs est appelée oncologie, le préfixe onco décrire du grec ogkos, qui signifie grosseur). Toutes les tumeurs ne sont pas malignes (Parham P, 2003).

I.3.1. Tumeur Bénigne

C'est un type de tumeur qui n'est pas capable de croître indéfiniment et qui n'envahit pas largement les tissus sains environnants (Judy et *al.*, 2014). Par exemple les verrues, sont entourées d'une capsule, restent localisées et de taille limité (Parham Peter, 2003).

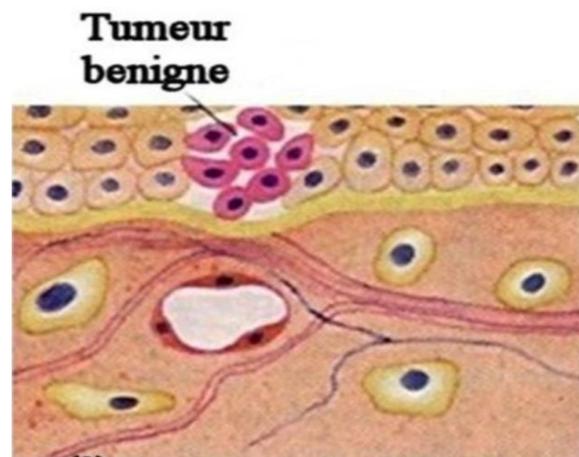


Figure 14: Tumeur bénigne (7).

I.3.2. Tumeur Maligne

Une tumeur qui continue à croître et devient progressivement invasive est maligne ; le terme cancer se réfère spécifiquement à une tumeur maligne. En plus

d'une croissance incontrôlée, les tumeurs malignes donnent des **métastases** (Figure 16)

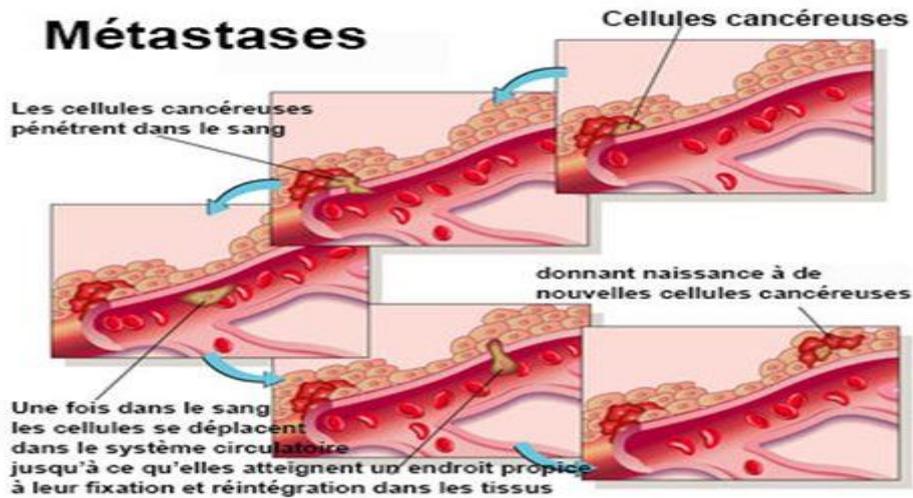


Figure 15 : Présentation schématique de métastase (8).

Dans ce processus, des petits groupes de cellules cancéreuses quittent la tumeur, envahissent les vaisseaux sanguins ou lymphatiques et atteignent d'autres tissus ou ils continuent à proliférer. De cette façon, une tumeur primaire au niveau d'un site peut donner naissance à une tumeur secondaire au niveau d'un autre site (Judy et *al.*, 2014).

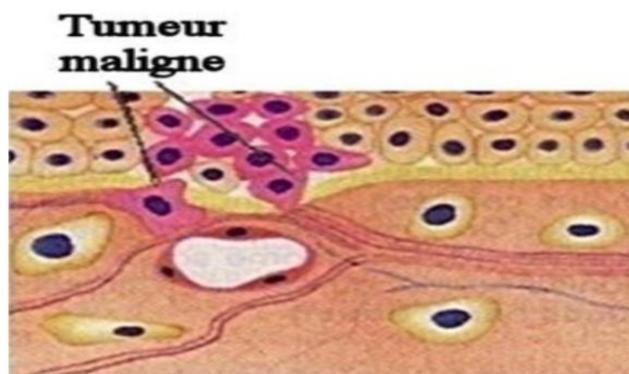


Figure 16: Tumeur maligne (7).

I.4. Antigènes de tumeur

Les cellules cancéreuses sont des cellules du soi et donc les antigènes qu'elles expriment sont sujets à un mécanisme de tolérance qui permet le maintien de

L'homéostasie et le contrôle de l'auto-immunité. Néanmoins, des antigènes uniques ou d'expression aberrante existent dans de nombreuses tumeurs et sont détectés par le système immunitaire. La plupart des antigènes sont à l'origine de peptides reconnus par le système immunitaire après présentation par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

En effet, de nombreux antigènes ont été identifiés par leur capacité à induire la prolifération de lymphocytes T cytotoxiques (CTL) ou de lymphocytes T helpers. Les antigènes de tumeurs reconnus par les lymphocytes T sont classés en quatre groupes en fonction de leur origine :

- Les antigènes codés par des gènes spécifiquement exprimés par les tumeurs.
- Les antigènes codés par des formes variantes de gènes normaux modifiés par des mutations.
- Les antigènes qui ne sont normalement exprimés qu'à certaines étapes de la différenciation ou uniquement par certaines lignées.
- Les antigènes qui sont surexprimés dans des tumeurs particulières.

De nombreuses études cherchent à utiliser ces antigènes pour le diagnostic, le pronostic et le ciblage des tumeurs. Il y a deux principaux types d'antigènes de tumeurs classés en fonction de leur caractère unique : les antigènes spécifiques de tumeurs (Tumor Specific antigens, TSA) et les antigènes associés aux tumeurs (Tumor associated antigènes TAA) (Judy et *al.*, 2014).

I.4.1. Antigènes spécifiques de Tumeurs

Les antigènes spécifiques de tumeurs sont spécifiques des cellules tumorales et absents de la surface des cellules normales de l'organisme. Ils peuvent résulter de mutations. Lorsqu'ils sont dégradés au sein du cytosol, ils créent de nouveaux peptides qui sont présentés par les molécules du CMH de classe 1, ce qui induit des CTL spécifiques de tumeurs. Les antigènes spécifiques de tumeur ont été identifiés dans des tumeurs induites par des carcinogènes chimiques ou physiques, ainsi que dans certaines tumeurs induites par des virus.

La démonstration de la présence d'antigènes spécifiques de tumeur dans des tumeurs induites par un carcinogène chimique ou spontanées est particulièrement difficile parce que la réponse immunitaire à de telles tumeurs élimine toutes les cellules tumorales portant un nombre suffisant d'antigènes tumoraux et, de cette façon, sélectionne les cellules porteuses de faibles taux d'antigènes tumoraux.

Néanmoins, de nouvelles approches ont été développées pour caractériser ces TSA, qui peuvent ne se différencier d'une protéine normale que par la seule modification d'un acide aminé. La caractérisation de nombreux TSA a montré que nombre d'entre eux n'étaient pas membranaires mais cytosoliques et qu'ils pouvaient être présentés à la surface après apprêtement sur les molécules de CMH1.

Contrairement aux tumeurs chimio-induites, les tumeurs viro-induites expriment des antigènes partagés par l'ensemble des tumeurs induites par le même virus, ce qui simplifie leur caractérisation.

I.4.2. Antigènes associés aux Tumeurs

Contrairement aux TSA, les TAA ne sont pas exprimés uniquement dans les cellules tumorales. En effet, les TAA sont des protéines cellulaires normales produites à un stade du développement, comme au stade fœtal, ou à des taux extrêmement faibles par les cellules normales dans des conditions normales. Ceux qui sont exprimés à la réactivation d'un gène fœtal ou embryonnaire suite à une mutation sont appelés antigènes de tumeurs onco-fœtaux. Ces gènes sont normalement exprimés durant le développement embryonnaire avant que le système immunitaire soit immunocompétent. Lorsqu'une transformation induit leur expression après ce stade, ils peuvent reconnus comme du non Soi et induire une réponse immunitaire.

En plus des antigènes embryonnaires, les TAA incluent également le produit de certains oncogènes tels que certains facteurs de croissances et leurs récepteurs. Ces protéines, bien que présentes chez l'adulte, sont normalement finement régulées et exprimées à de faibles niveaux (figure 18). Par exemple, toute une série de tumeurs expriment le récepteur de l'EGF à des taux 100 fois supérieurs à celui des cellules normales. Un exemple de facteur de croissance surexprimé servant associé à une tumeur, est le facteur de croissance de la transferrine, appelé p97, qui contribue au

Transport du fer dans les cellules. Alors que les cellules normales expriment moins de 8 000 molécules de p97 par cellule (Judy et *al.*, 2014).

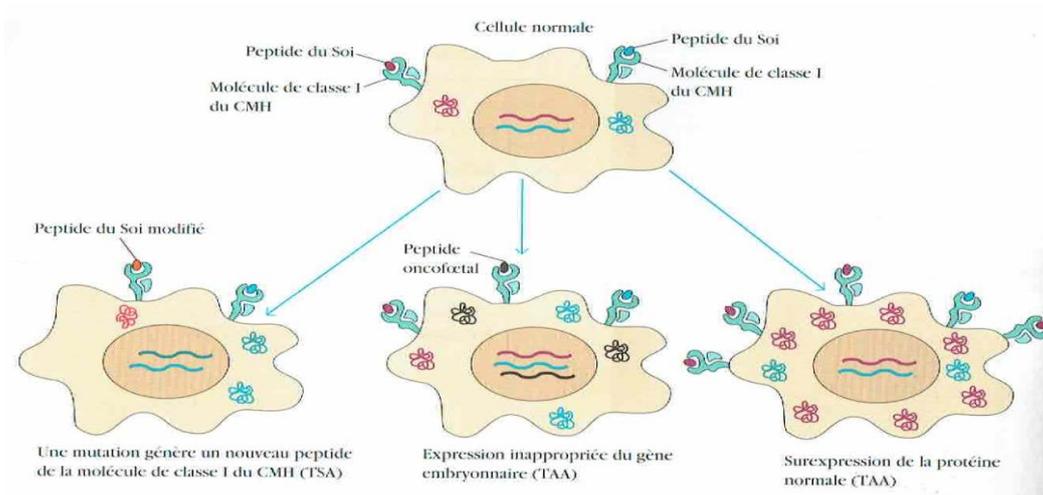


Figure 17 : Différents mécanismes créent des antigènes spécifiques des tumeurs (TSA) et des antigènes associés aux tumeurs (TAA) (Judy et *al.*, 2014).

II. Immunité antitumorale

Les tumeurs malignes dérivent de la croissance incontrôlée d'un clone de cellule (groupe de cellules qui sont toutes issues d'une seule et unique cellule progénitrice transformées).

Cette prolifération des cellules tumorales qui est insensible aux mécanismes physiologiques de régulation, est associée à de nombreuses anomalies acquises de leur génome qui touchent les oncogènes. Les oncogènes s'expriment dans les cellules normales et leurs produits sont impliqués dans les phénomènes de prolifération cellulaire. Il s'agit d'enzyme (protéines kinases....) impliquées dans la transduction des signaux d'activation, de facteurs de transcription (c-myc, c-fos....) ou des récepteurs de facteurs de croissance. A l'inverse, les anti-oncogènes contribuent à réprimer la prolifération et, dans certains cas, la différenciation cellulaire. Des mutations au niveau de certains oncogènes (c-myc dans le lymphome de burkitt, abl dans certaines leucémies.....), qui augmentent leur activité biologique, ou au niveau de certains anti-oncogènes (protéine p53), qui de ce fait sont rendus inactifs, ont été décrites dans différentes tumeurs humaines et peuvent rendre compte de la

Prolifération incontrôlée des cellules tumorales. Différents arguments plaident en faveur d'un rôle du système immunitaire dans le contrôle de la prolifération des tumeurs. Les cellules tumorales expriment des antigènes membranaires et cytoplasmiques dont la caractérisation moléculaire a énormément progressé au cours des dernières années.

Ces antigènes peuvent susciter des réponses immunitaires et cellulaires susceptibles d'aboutir à l'éradication ou « rejet » de tumeur. Il est désormais assez bien établi qu'en matière d'immunité antitumorale naturelle, c'est essentiellement la réponse cellulaire T cytotoxique spécifique des antigènes tumoraux, et non pas la réponse humorale, qui joue un rôle protecteur. En particulier, les modèles expérimentaux de tumeurs développés chez la souris ont montré que lorsqu'une réponse cellulaire T adéquate se développe, non seulement la tumeur est éradiquée mais, de plus, l'hôte devient résistant à toute nouvelle inoculation par cette même lignée tumorale. Ainsi, le développement des techniques permettant l'identification des peptides antigéniques reconnus par des clones lymphocytaires T spécifiques de tumeurs a marqué, vers la fin des années 1980, une étape de toute première importance.

De façon paradoxale l'administration des anticorps monoclonaux dirigés contre des cibles tumorales ou de son microenvironnement a constitué une avancée thérapeutique majeure démontrant un rôle anti tumoral des anticorps.

Cependant, dans de très nombreux cas, la réponse immunitaire anti tumorale ne s'exprime pas comme elle devrait, car les cellules tumorales développent des mécanismes qui leur permettent d'échapper à la réponse immunitaire. Ces différentes phases de l'interaction entre l'hôte et la cellule tumorale ont été conceptualisées par la théorie des 3E de Schreiber qui stipule que l'interaction entre le système immunitaire et la cellule tumorale peut conduire à l'élimination de la tumeur, à un état d'équilibre (maîtrise de la prolifération des cellules tumorales sans éradication) ou à un échappement de la cellule tumorale au contrôle immunologique. C'est ce qui explique que les cancers soient parmi les trois premières causes de décès dans les industrialisés, et que la définition de nouvelles stratégies d'immuno-intervention, permettant d'augmenter de manière significative la réponse lymphocytaire T anti tumorale,

Représente aujourd'hui un axe prioritaire de la recherche en immunologie (Chatenoud et Bach, 2012).

II.1. Mécanismes effecteurs antitumoraux

A l'instar de toute réaction immunitaire, la réponse anti tumorale est associée à la présence d'anticorps, de cellule T auxiliaires et cytotoxiques spécifiques des antigènes tumoraux que nous venons de discuter. Etant donné que définition, l'éradication d'une tumeur nécessite l'élimination physique de la totalité des cellules tumorales, une attention particulière a de tout temps été portée sur les mécanismes de cytotoxicité. Les mécanismes moléculaires qui sous-tendent cette cytotoxicité peuvent, du moins en théorie, varier en fonction de la cible tumorale (Chatenoud et Bach, 2012).

II.1.1. Mécanismes de cytotoxicité à médiation cellulaire

On reconnaît à l'heure actuelle deux types principaux de cellules lymphocytaires spécialisées capables d'exercer des fonctions de cytotoxicité sur des cibles tumorales. Il s'agit des lymphocytes T cytotoxiques et des cellules Naturel Killer ou NK. Même si les données sont encore préliminaires, il est important de citer également dans cette liste les lymphocytes NK invariants (Chatenoud et Bach, 2012).

De nombreuses données, obtenues à partir de modèles expérimentaux ou d'études cliniques, soulignent le rôle majeur dans le rejet des tumeurs des lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques spécifiques. La fréquence de ces cellules peut être particulièrement élevée parmi les lymphocytes qui infiltrent les tumeurs. D'une manière générale, les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques peuvent éliminer les cibles tumorales en libérant leurs granules qui contiennent des sérines estérases et de la perforine. Par ailleurs, certaines lignées tumorales peuvent exprimer de manière constitutive le récepteur Fas impliqué dans la transduction de signaux de mort cellulaire programmée ou apoptose. La destruction de ces cellules tumorales peut donc être déclenchée par l'interaction avec le ligand de Fas dont on sait qu'il est exprimé à la surface de lymphocytes T activés. Cette expression du ligand de Fas concerne aussi bien les lymphocytes T CD8⁺ que CD4⁺. On ne peut exclure que, dans certains cas les lymphocytes T CD4⁺ puissent être également impliqués dans les phénomènes de cytotoxicité anti-tumorale.

Les lymphocytes NK ont été initialement décrits et sont toujours identifiés, chez l'homme et la souris, par leur capacité de lyser de manière spontanée, sans aucune sensibilisation préalable, des cibles tumorales. Ils ont de tout temps été considérés comme la première barrière d'immunité naturelle anti-tumorale, des sortes de cellules « sentinelles » pouvant détecter et détruire précocement les cellules transformées. Ainsi, les souris porteuses de la mutation « beige », déficiente en cellules NK, sont anormalement sensibles aux tumeurs provoquées et spontanées.

Les mécanismes moléculaires permettant aux lymphocytes NK de distinguer les cibles tumorales des cellules normales de l'organisme sont demeurés pendant de très nombreuses années totalement inconnues. Il est désormais établi que les lymphocytes NK possèdent des récepteurs spécialisés qui leur permettant d'exercer une activité cytotoxique vis-à-vis de cibles qui expriment peu ou pas de molécules d'histocompatibilité de classe I. Il est parallèlement assez bien établi que la perte d'expression des molécules de classe I est une caractéristique fréquente des cellules tumorales, ce qui conforte l'hypothèse du rôle des cellules NK en matière d'immunité anti-tumorale (Chatenoud et Bach, 2012).

II.1.2. Mécanismes de cytotoxicité antitumorale dépendante des anticorps

Les anticorps naturels ont un rôle qui n'est pas clairement établi dans l'immunité anti tumorale, tandis que de nombreux anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes tumoraux ou l'angiogénèse tumorale sont entrés dans l'arsenal thérapeutique. Lorsque l'anticorps s'est fixé sur sa cible tumorale, il peut entraîner une lyse de la cellule par un mécanisme d'ADCC (antibody dependent cell cytotoxicity) correspondant à la fixation de la portion FC de l'anticorps sur un RFcγ activateur (RFcγ1, RFcγ2a, RFcγ3a) exprimé par des macrophages ou des cellules NK. Les anticorps d'isotype IgG1 et IgG3 sont plus efficaces pour cette activité. Le rôle de ces RFcγ activateur dans l'activité anti-tumorale des anticorps a été démontré chez la souris par la perte de l'activité thérapeutique de l'anticorps en cas de déficience en RFcγ activateur. Chez l'homme, une corrélation entre les polymorphismes des RFcγ activateurs et l'efficacité des anticorps suggère également un rôle de ces RFcγ dans le mécanisme d'action de ces anticorps. Par ailleurs, la

liaison de l'anticorps sur la cellule tumorale peut entraîner la fixation de la protéine C1q sur fragment Fc de l'anticorps suivie par une cascade d'activation de protéines de la voie classique du complément pour aboutir à la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM) capable de lyser la cellule tumorale. Les IgM, les IgG1 et les IgG3 sont les isotypes activant le mieux la voie classique du complément (Chatenoud et Bach, 2012).

II.1.3. Rôle des cytokines

Les souris déficientes en IFN-gamma ou en un élément constitutif de la voie de signalisation activée par son récepteur développent de nombreuses tumeurs ce qui suggère un impact important de cette cytokine dans l'élimination des cancers. Cette cytokine peut avoir une activité anti tumorale directe en facilitant la reconnaissance et l'élimination des cellules tumorales par les lymphocytes T CD8 en augmentant l'expression des CMH1. Les interférons de types I (α / β) et type II (γ) augmentent l'activité des cellules du système immunitaire ce qui les rend plus à même d'éradiquer les cellules tumorales. Récemment, le rôle de l'IL-12 a été particulièrement étudié. L'injection d'IL-12 à des souris les protège de l'induction de cancer par un type carcinogène chimique. Les souris déficientes en IL-12 développent également plus de papillomes (un type de cancer épithélial) que les souris sauvages. Cela peut être dû en partie au rôle de l'IL-12 dans le développement des lymphocytes T. Cette cytokine induit les DC à activer des fortes réponses TH1 et CTL.

La cytokine TNF- α tient son nom de son activité anti tumorale. Lorsqu'elle est injectée à des souris atteintes d'une tumeur, elle induit le saignement et la nécrose de la tumeur. Toutefois, des activités pro- et anti tumorales de cette cytokine ont aussi été démontrées. Les souris TNF-/- traitées par de nombreux carcinogènes ont développé soit plus de sarcomes soit moins de carcinomes cutanés que les souris sauvages. Ces variations étant dépendantes de la lignée de souris et du traitement, ce qui suggère un rôle plus complexe du TNF- α dans l'immunité tumorale (Judy et *al.*, 2014).

II.2. Mécanismes d'échappement antitumoral

Néanmoins, la fréquence élevée des tumeurs en clinique humaine illustre bien à quel point les tumeurs spontanées sont résistantes aux mécanismes mis en place par le

système immunitaire pour les éliminer. Parmi les différents mécanismes d'échappement à la surveillance immunitaire identifiés :

II.2.1. Diminution de l'expression des molécules du CMH

Des défauts d'apprêtement ou de présentation antigénique sont fréquemment retrouvés dans les tumeurs parmi les mutants qui échappent au système immunitaire. Ces défauts incluent certaines mutations qui vont diminuer l'expression des molécules du CMH, sécréter les TSA plutôt qu'une expression de surface, inhiber le transport associé à l'apprêtement antigénique (TAP) ou la B2-microglobuline, et insensibiliser à l'IFN- γ . Chacune de ces mutations induit une diminution de la présentation antigénique sur les CMH de classe I et une profonde inhibition de la reconnaissance par les lymphocytes T CD8. Les cellules NK devraient être en mesure de reconnaître ces cellules exprimant plus faiblement les CMH I mais une diminution de l'expression des ligands des récepteurs activateurs des NK est également fréquente dans les tumeurs ce qui leur permet d'échapper à la lyse par ces cellules (Judy *et al.*, 2014).

II.2.2. Echappement aux signaux d'apoptose

L'augmentation des facteurs anti-apoptotiques et l'absence ou l'expression de récepteurs de morts mutés peut amener des tumeurs à devenir résistantes aux signaux de mort cellulaire programmée. Ainsi, un défaut dans le mécanisme de réparation de l'ADN dans les cellules tumorales couplé à une pression du système immunitaire (par ex., une lyse spécifique des cellules exprimant les CMH de classe I) favorise l'accumulation de cellules tumorales portant ces mutations qui permettent la survie cellulaire. En effet, l'absence de CMH sur les cellules tumorales est généralement un signe de progression tumorale et de mauvais pronostic (Judy *et al.*, 2014).

II.2.3. Défaut d'expression de molécules de costimulation

Une activation complète d'un lymphocyte T nécessitait deux signaux : un signal d'activation induit par l'engagement d'un complexe CMH –peptide antigénique par le TCR et un signal de costimulation résultant de l'engagement de la molécule costimulatrice CD28 sur les lymphocytes T par le CD80 ou CD86 (B7) exprimé par les CPA. Ces deux signaux sont nécessaires pour induire la production d'IL-2 et la prolifération des lymphocytes T. En raison de leur statut de cellule du soi, les cellules

tumorales sont assez faiblement immunogènes et ont tendance à ne pas exprimer de molécule de costimulation. En absence d'un nombre suffisant de CPA dans le proche voisinage de la tumeur et un faible nombre de facteurs stimulateurs de ces cellules, les lymphocytes T spécifiques de la tumeur ne recevront qu'un signal d'activation partiel. Ceci peut conduire à une anergie clonale et à une tolérance. Récemment, des thérapies antitumorale cherchant à augmenter la costimulation des lymphocytes T antitumoraux ont été agréé (Judy et *al.*, 2014).

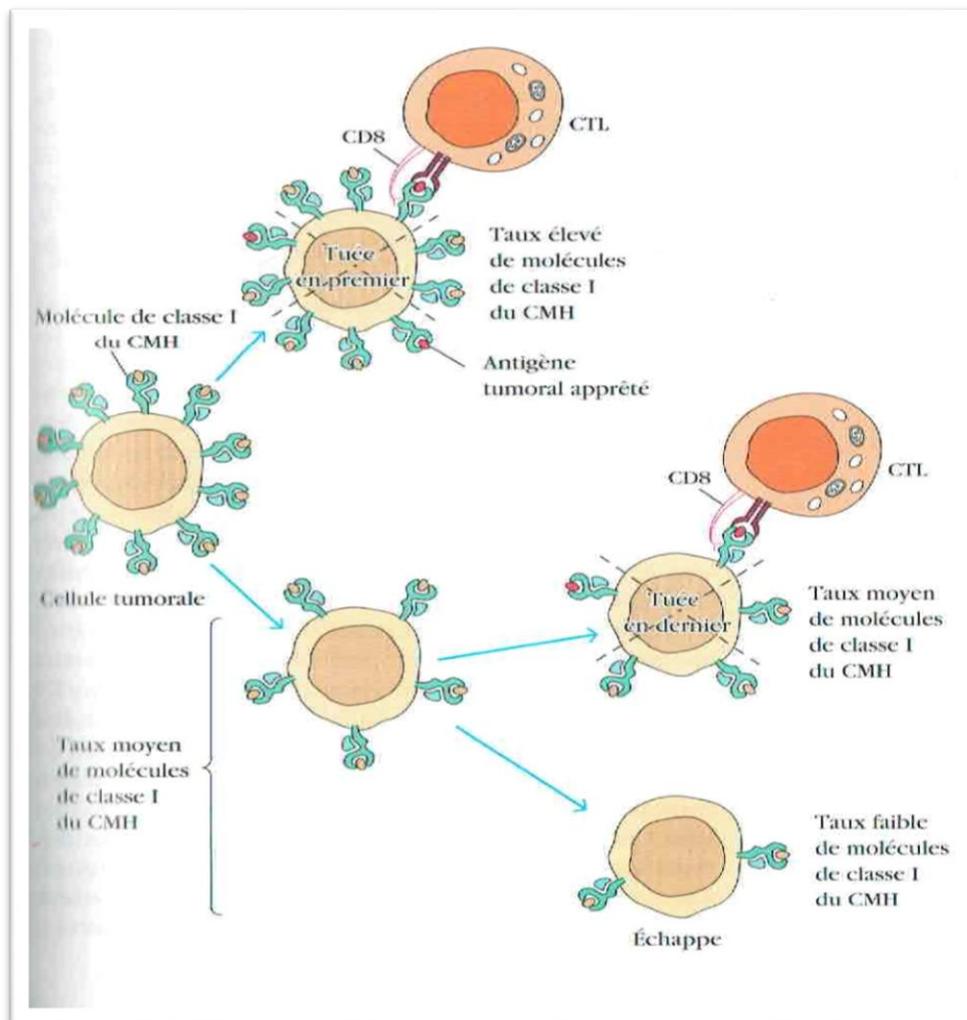


Figure 18: Diminution de l'expression des molécules de Classe I du CMH des cellules tumorales pourrait permettre à une tumeur d'échapper à la reconnaissance par les CTL (Judy et *al.*, 2014).

III. Immunothérapie du cancer

La science qui mobilise le système immunitaire pour vaincre le cancer, fait l'objet de recherches depuis plus d'un siècle. Pourtant, ce n'est que récemment que cette puissante stratégie a finalement pris le devant de la scène en oncologie traditionnelle. Au cours des dernières années, des réactions cliniques sans précédent, un développement rapide de médicaments et des premières autorisations en nature de la part de la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis ont été accordées. Les rapports de patients atteints d'un cancer en phase terminale défiant les pronostics et réalisant des rémissions complètes s'accumulent. Ces réussites sont l'aboutissement de décennies de recherches laborieuses menées par des scientifiques et des médecins pionniers. Les immunothérapies récemment approuvées incluent des médicaments capables de manipuler des composants du système immunitaire et des méthodes d'ingénierie génétique des propres lymphocytes T des patients pour reconnaître et attaquer leurs tumeurs.

Les chercheurs s'emploient à développer l'utilisation de l'immunothérapie pour aider davantage de patients atteints de cancer. Mais on ne sait toujours pas pourquoi seul un sous-groupe d'individus réagit au traitement et comment mieux atteindre les rémissions prolongées. Des centaines d'essais cliniques sont en cours pour déterminer s'il est possible d'obtenir de meilleures réponses en combinant des approches thérapeutiques. La découverte des bases cellulaires et moléculaires de la résistance au traitement devrait faciliter la conception rationnelle de nouvelles études basées sur des mécanismes. Les avancées en matière de séquençage du génome identifient des biomarqueurs prédictifs et facilitent la conception de vaccins personnalisés qui ciblent les néo-antigènes tumoraux spécifiques du patient. Ces axes de recherche, ainsi que les preuves de plus en plus évidentes que le microbiome intestinal joue un rôle déterminant dans la réponse à l'immunothérapie, tracent des voies novatrices menant à une médecine réellement personnalisée (Priscilla, 2018).

I. Anticorps monoclonaux ciblant les antigènes associés aux tumeurs

I.1. Anticorps anti-CD20

L'arrivée sur le marché en 1998 du premier anticorps monoclonaux chimérique anti-CD20, Rituximab, a révolutionné la prise en charge des lymphomes (GOUBET et *al.*, 2018).

Le CD20 est un marqueur très spécifique des LB, exprimé en grande quantité à la surface des lymphocytes pré-B et des LB matures. En revanche, il n'est pas exprimé à la surface des souches hématopoïétiques, des cellules pro-B ni des plasmocytes sauf pour un petit contingent (Sibilia et Sordet, 2005). Son rôle reste encore mal compris. On suppose qu'il agit en régulant les flux calciques et qu'il intervient dans la transduction des signaux lors de l'activation et de la différenciation des lymphocytes B (GOUBET et *al.*, 2018).

I.1.1. Rituximab (Mabthera®)

I.1.1.1. Définition

Le Rituximab, commercialisé en France sous le nom de Mabthera®, est un anticorps Monoclonal chimérique murin/humain obtenu par génie génétique. Il se lie spécifiquement à l'antigène transmembranaire CD20 situé sur les lymphocytes pré-B et B matures. Le fragment Fab murin du Rituximab se lie à l'antigène CD20 des lymphocytes B et le fragment Fc (chaîne lourde humaine IgG-1 associée à une chaîne légère kappa), se fixe au complément et peut entraîner la lyse de ces lymphocytes (cytotoxicité complément dépendante) (Reynaud et *al.*, 2015).

Le Rituximab a été initialement utilisé dans les Lymphomes indolents, principalement folliculaires, en rechute comme traitement isolé. L'étude pivot de McLaughlin et *al.* A permis l'enregistrement du rituximab dans cette indication (GOUBET et *al.*, 2018).

I.1.1.2. Mode d'action

Le Rituximab est devenu un pilier dans le traitement d'une large variété d'affections malignes à cellules B. Plusieurs études *in vitro* ont démontré qu'il a une grande capacité d'induire une CDC de plusieurs lignes cellulaires B. L'expression des molécules inhibitrices du complément CD55 et CD59 sur les cellules malignes B est corrélée avec la lyse observée *in vitro*. Afin de vérifier l'activité anti-tumorale du Rituximab qui se traduit par une CDC, cet AcM a été ajouté à un fluide extravasculaire dans lequel la concentration en composants du complément est plus faible que dans le plasma. La CDC a été, toute de même, observée d'où la suggestion que la CDC doit contribuer à l'activité anti-tumorale du Rituximab dans les

Compartiments intra et extravasculaire. La CDC peut induire la mort des cellules ciblées par le Rituximab. Cette activité est considérée comme le mécanisme d'action principal dans certains modèles animaux. Beaucoup de données suggèrent le fait que la CDC intervienne chez des patients, traités par le Rituximab. Les points les moins claires sont le degré de contribution de ce mécanisme dans la réponse anti-tumorale et si cet AcM est actif contre les cellules qui sont en dehors du compartiment intra-vasculaire. De manière globale, l'évidence de la bonne contribution de la CDC à l'efficacité clinique du Rituximab était assez importante pour encourager le développement de nouvelles générations d'anti-CD20 ayant une capacité renforcée de fixer le complément. L'évidence la plus convaincante que l'ADCC est mécaniquement impliquée dans la réponse clinique du Rituximab vient des études démontrant l'association entre le polymorphisme du CD16 (FcγRIIIa) et la réponse clinique du Rituximab. En effet, les homozygotes présentant 2 valines (VV) en position 158 ont une affinité plus importante pour les IgG1 que les CD16 avec une phénylalanine (VF ou FF) dans cette position. Les patients présentant un Lymphome folliculaire avec un génotype VV présentent une meilleure réponse clinique au Rituximab comparativement au 2ème phénotype. Une autre étude pointe l'interaction avec le FcγRIIIa (NOUAR, 2015).

Ces études soulignent l'importance de l'interaction Fc-FcγR pour les effets antitumoraux du Rituximab et suggèrent que l'ADCC soit le mécanisme majoritaire. Elles définissent les NK, les principales cellules à exprimer le CD16, comme des contributeurs clés à l'activité antitumorale des AcM. Il est néanmoins important de signaler que toutes les données traitant ces polymorphismes ne sont pas pertinentes. L'interaction entre le fragment Fc et le CD16 contribue à l'activité anti-tumorale du Rituximab, d'après certaines études. L'interprétation la plus pertinente de ces observations est que les NK induisent une ADCC des cellules ciblées par le Rituximab. En effet, les NK activées en présence du Rituximab produisent l'INFγ qui, lui, peut avoir un effet anti-tumoral direct sur les cellules malignes ou peut activer d'autres cellules effectrices comme les granulocytes (FcγR affin à l'INFγ) qui contribue à l'ADCC (Figure 19) (NOUAR, 2015).

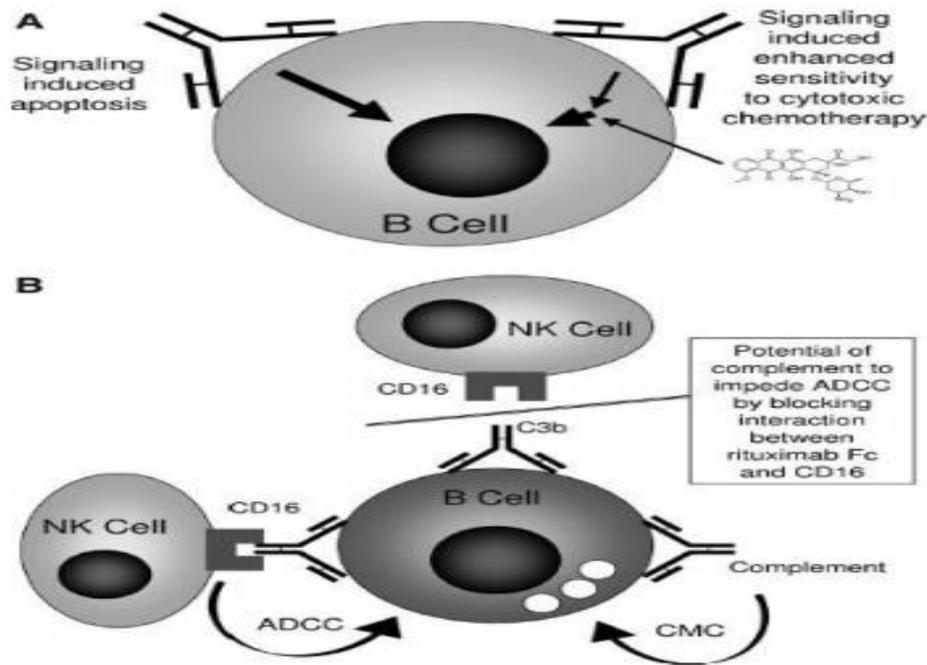


Figure 19: Mécanisme d'action du Rituximab (A : signal direct. B : CDC et ADCC avec un potentiel antagonisme entre ces 2 mécanismes) (NOUAR, 2015).

Le complément peut impacter directement l'activation des cellules B. Le C3 a été démontré comme ayant un effet inhibiteur direct sur les fonctions des NK. L'épuration des corps apoptotiques par le complément peut freiner le développement d'une réponse immune ce qui expliquerait la corrélation entre le polymorphisme du C1q et la durée de réponse du Rituximab. Une rémission a, en effet, été observée chez les sujets présentant un polymorphe associé à un niveau de C1q plus bas et une activité biologique C1q moins importante. L'activation des NK et l'ADCC induite par le Rituximab sont inhibés par le C3b du complément. L'épitope qui fixe le C3b au Fc de l'IgG est très proche de l'épitope qui fixe le Fc au CD16. Ainsi la fixation du complément empêche la fixation du Rituximab sur le CD16 et inhibe l'ADCC induite. Le complément peut donc avoir des effets positifs ou négatifs sur la thérapie. Il existe des preuves que tous les anti-CD20 ne sont pas semblables. La classe I (Rituximab) et la classe II (Tositumomab), diffèrent dans leurs façons de fixer le CD20. Comparée à la classe I, il paraît que la classe II donne lieu à moins de mouvement du récepteur CD20 dans les radeaux lipidiques, augmente le signal de mort cellulaire induite, diminue la CDC et augmente l'ADCC (Figure 19) (NOUAR, 2015).

I.1.1.3. Association à la chimiothérapie

C'est toutefois en association avec la chimiothérapie (CHOP = Cyclophosphamide — Hydroxydoxorubicine — ONCOVIN® (Vincristine) — Prednisone) que le Rituximab a montré un allongement de la survie des patients par rapport à la chimiothérapie seule.

Dans les lymphomes agressifs, l'association Rituximab—Chimiothérapie allonge également la survie et est devenue le traitement de référence. Dans la leucémie lymphoïde chronique (LLC), le traitement par Rituximab en monothérapie de première ligne a permis d'obtenir un taux de réponse globale allant de 51 à 90% dont 4 à 19 % de réponses complètes. Dans cette indication, c'est aussi en association avec la chimiothérapie que la place du rituximab semble être la plus importante. La Fludarabine, analogue des purines le plus étudié dans la LLC, en association avec le Cyclophosphamide et l'AcM anti-CD20 permet aujourd'hui des résultats notables. En diminuant l'immunogénicité par les techniques d'humanisation précédemment énoncées, les AcMs anti-CD20 de seconde génération et de troisième génération tels que l'Ofatumumab et l'Obinutuzumab, améliorent l'efficacité des traitements et permettent de contourner certaines résistances (GOUBET et *al.*, 2018).

I.1.1.4. Indication thérapeutique

Une déplétion lymphocytaire B périphérique complète est généralement obtenue chez la plupart des patients traités par Rituximab. Le Rituximab a été utilisé en premier lieu dans les lymphomes B à partir de 1997 puis pour la polyarthrite rhumatoïde réfractaire aux anti-TNF alpha (tumor necrosis factor) à partir de 2006. Il a récemment obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM en décembre 2013) pour le traitement d'induction de la rémission des patients adultes atteints de granulomatose avec polyangéite (GPA ; maladie de Wegener) et polyangéite microscopique (PAM) sévères et actives (Reynaud et *al.*, 2015).

Le Rituximab a obtenu l'AMM en France : en hématologie, pour le traitement des lymphomes B diffus à grandes cellules en association à la chimiothérapie, les lymphomes folliculaires et la leucémie lymphoïde chronique ; en rhumatologie, pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde (PR), en association au méthotrexate, après réponse insuffisante ou en cas d'intolérance aux anti-TNF (Feurer et *al.*, 2014).

I.1.1.5. Posologie

En dehors de ces indications, le Rituximab a montré une efficacité, le plus souvent dans le cadre d'études ouvertes, pour le traitement de nombreuses maladies auto-immunes au cours

Des quelles est incriminée la responsabilité des lymphocytes B. Le Rituximab est administré en intraveineuse après prémédication pour prévenir une réaction allergique. Deux schémas d'administration sont utilisés : dans la PR, deux perfusions de 1000 mg à quinze jours d'intervalle ; dans les hémopathies lymphoïdes, une perfusion hebdomadaire de 375 mg/m², avec une périodicité variable selon la pathologie. C'est ce schéma qui a été le plus souvent utilisé au cours des maladies auto-immunes (Feurer et *al.*, 2014).

I.1.1.6. Effets secondaires

L'effet secondaire le plus fréquent est une réaction allergique au cours de l'injection (30–35 % lors de la première perfusion). Ces réactions sont principalement liées, comme pour l'Infliximab, au développement d'anticorps dirigés contre la partie murine de la molécule (9,2 %). De nombreuses complications infectieuses ont été rapportées : infections à pyogènes (Pneumonie, Septicémie, etc.) ou infections opportunistes (Zona, Infections Fongiques, etc.) pouvant aboutir au décès du patient.

Les immunosuppresseurs associés et la pathologie sous-jacente favorisent le développement de ces infections. Ont été également décrits des cas de : neutropénie persistante, réactivation virale B, décompensation cardiaque. Plusieurs publications ont récemment rapportées le développement, pratiquement toujours fatale, de leucoencéphalite multifocale progressive due au virus JC, en particulier au cours de lupus ou de PR graves ayant reçu au préalable un agent alkylant à visée immunosuppressive (Feurer et *al.*, 2014).

I.2. Anticorps anti-EGFR

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est impliqué de façon majeure dans l'oncogenèse de nombreux types de cancer d'origine épithéliale, dont le Cancer Colorectal (Nelly, 2018).

I.2.1. Cétuximab (Erbix®) et Panitumumab (Vectibix®)

I.2.1.1. Définition

Le Cétuximab (Erbix®), un Anticorps Monoclonal chimérique murin/humain, et le Panitumumab (Vectibix®), un Anticorps Monoclonal de structure totalement humaine, tous les deux dirigés contre l'EGFR, sont indiqués pour la prise en charge du Cancer Colorectal

Métastatique. La structure du Panitumumab limite en théorie le risque de réaction d'hypersensibilité immédiate rencontrée lors de l'utilisation du Cétuximab (Nelly, 2018).

I.2.1.2. Mode d'action

Environ 50 % des Cancers Colorectaux portent une mutation activatrice des gènes RAS (majoritairement KRAS et NRAS) entraînant une activation constitutive de la voie de signalisation de l'EGFR indépendamment de celle de ce récepteur par son ligand. Aussi, la recherche systématique de ces mutations permet d'identifier les patients susceptibles de recevoir un anticorps anti-EGFR (absence de mutation) (Nelly, 2018).

De nombreuses molécules sont actuellement utilisées comme thérapeutique ciblée pour bloquer la multiplication des cellules cancéreuses qui comportent des récepteurs aux facteurs de croissance cutanée. Il peut s'agir d'Anticorps Monoclonaux qui bloquent le domaine extracellulaire comme le Cetuximab (Erbix®) et le Panitumumab (Vectibix®) (Bagot, 2017).

Ces deux anticorps se comportent comme des antagonistes compétitifs en se fixant au site de liaison de l'EGF et induisent, par ailleurs, une réaction cytotoxique de type ADCC (Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity) mettant en jeu des effecteurs cellulaires du système immunitaire (Nelly, 2018).

Il existe aussi des petites molécules qui inhibent l'activité tyrosine-kinase du récepteur du facteur de croissance épithéliale (EGF-R) : l'Erlotinib (Tarceva®) et le Gefitinib (Iressa®). C'est un domaine en pleine expansion et des molécules de nouvelle génération comme l'Afatinib (Giotrif®) apportent encore plus de spécificité et d'efficacité (Bagot, 2017).

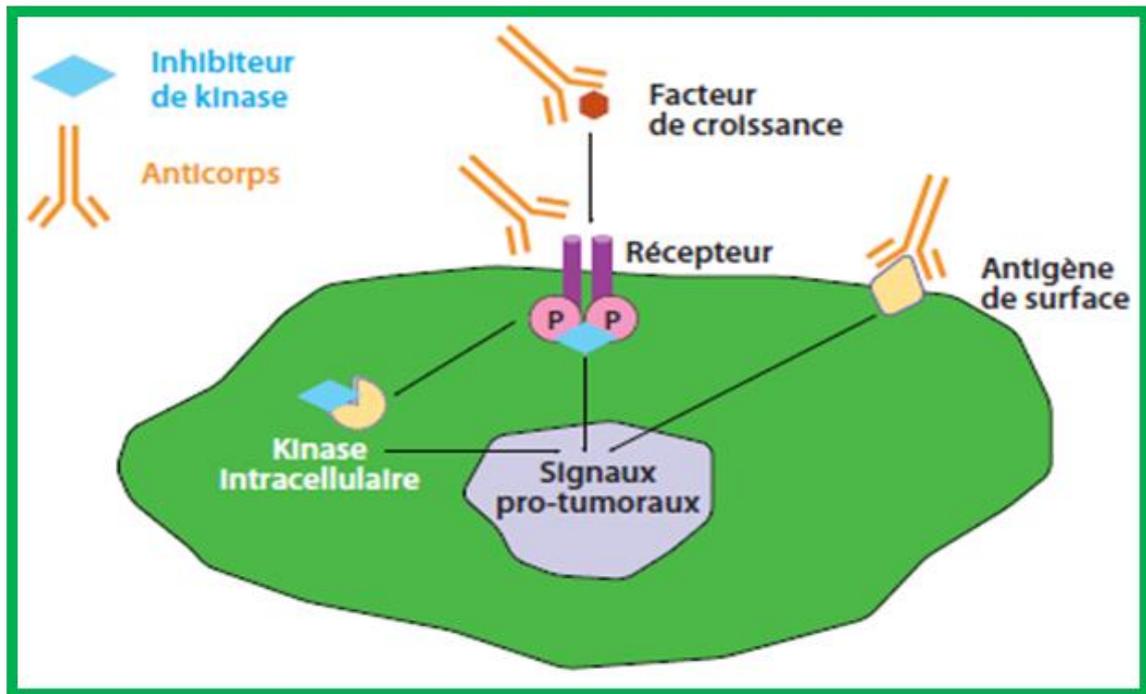


Figure 20: Stratégies des thérapies ciblées anticancéreuses (Sébastien, 2015).

I.2.1.3. Clinique

Ces Anticorps sont classiquement associés aux protocoles FOLFOX ou FOLFIRI. Le Cétuximab est utilisé à la dose de 250 mg/m² (après une dose de charge) et le Panitunumab à la dose de 6 mg/kg. En dehors du risque d'hypersensibilité, les anti-EGFR présentent, comme principaux effets indésirables, des toxicités cutanées (rash acnéiforme, xérose) qui touchent 80 % des patients et une hypomagnésémie (Nelly, 2018).

À ces médicaments nouveaux s'associent des effets secondaires nouveaux, essentiellement cutanés, de prévention difficile et nécessitant souvent une antibiothérapie systémique. Les lésions dermatologiques sont dominées par une folliculite du haut du corps touchant quasiment tous les patients (Bagot, 2017).

I.2.1.4. Indication

Les Anticorps Monoclonaux ont pour indications :

- le Cancer Colorectal K-Ras et N-Ras sauvage (Cétuximab, Panitunumab) ;
- le Cancer de la tête et du cou (Cétuximab) ;

- le Cancer Bronchique non à petites cellules avec (Géfitinib, Erlotinib, Afatinib) ou sans (Erlotinib) mutation activatrice de l'EGFR (Sébastien, 2015).

I.3. Anticorps anti-VEGF

Le VEGF signifie «Vascular endothelial growth factor» (facteur de croissance de l'endothélium vasculaire), il s'agit d'une molécule de signalisation, il assure le développement de vaisseaux sanguins péri-tumoraux. Le VEGF représente les cibles thérapeutiques les plus prometteuses pour le traitement des cancers gastro-intestinaux (Ferretti, 2017).

I.3.1. Bevacizumab (Avastin®)

I.3.1.1. Définition

Le Bevacizumab est un Anticorps Monoclonal humanisé recombinant anti-facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF : vascular endothelial growth factor) (d'où le suffixe -zumab) de type IgG1. Il est utilisé en complément d'une chimiothérapie classique ou d'un ITK (inhibiteurs de la tyrosine kinase) chez les patients porteurs d'un cancer bronchique non à petites cellules non épidermoïde (Ferretti, 2017).

Le Bevacizumab se lie sélectivement au VEGF humain et neutralise toutes les isoformes du VEGF en se liant à un épitope distinct du site de liaison au récepteur. La fixation du Bevacizumab sur le VEGF circulant empêche donc l'activation des récepteurs du VEGF. Ceci entraîne donc le blocage de l'activité biologique qui en découle, soit un arrêt du développement des cellules endothéliales et par conséquent un arrêt de la prolifération des vaisseaux sanguins. Un grand nombre d'expériences ont validé l'activité anti-tumorale non négligeable de l'Avastin® dont l'efficacité réside dans le contrôle des cancers. En effet, les protocoles comprenant l'Avastin® ont permis de faire passer le taux de réponse au traitement de 35 à 45%, un allongement de temps sans progression et de la survie. Le Bevacizumab est historiquement la première thérapie ciblée à avoir montré un intérêt dans le cancer du rein métastatique (Saillard, 2014).

I.3.1.2. Production du Bevacizumab

La production du Bevacizumab se fait par génie génétique. Le principe réside dans l'humanisation d'un anticorps de souris dirigé contre le VEGF: Mab A.4.6.1. On développe une fraction humanisée Fab (fragment antigen binding) de cet anticorps murin (Fab-12) dont est directement issu le Bevacizumab. Celui-ci est donc constitué d'une partie constante

D'origine humaine et d'une partie variable d'origine murine. D'autre part, le Bevacizumab a deux domaines de liaison antigénique (Saillard, 2014).

I.3.1.3. Mode d'action

Le Bevacizumab se lie au facteur clé de la Vasculogénèse et de l'Angiogénèse, à savoir le VEGF. Son mécanisme d'action est basé sur l'inhibition de la liaison du VEGF à ses récepteurs, VEGFR-1 ou Flt-1 et KDR ou VEGFR-2, à la surface des cellules endothéliales. La neutralisation biologique du VEGF a pour conséquence la régression des vaisseaux tumoraux ainsi que la normalisation de ceux restants, la régression de la croissance des microvaisseaux. On observe également une inhibition de la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux, ainsi qu'une inhibition de la progression des métastases. Le Bevacizumab entraîne donc un blocage des phénomènes de néo vascularisation, ce qui a pour conséquence d'inhiber la croissance tumorale. A noter que le Bevacizumab a un effet additif, voire synergique, avec les médicaments cytotoxiques « classiques » (Saillard, 2014).

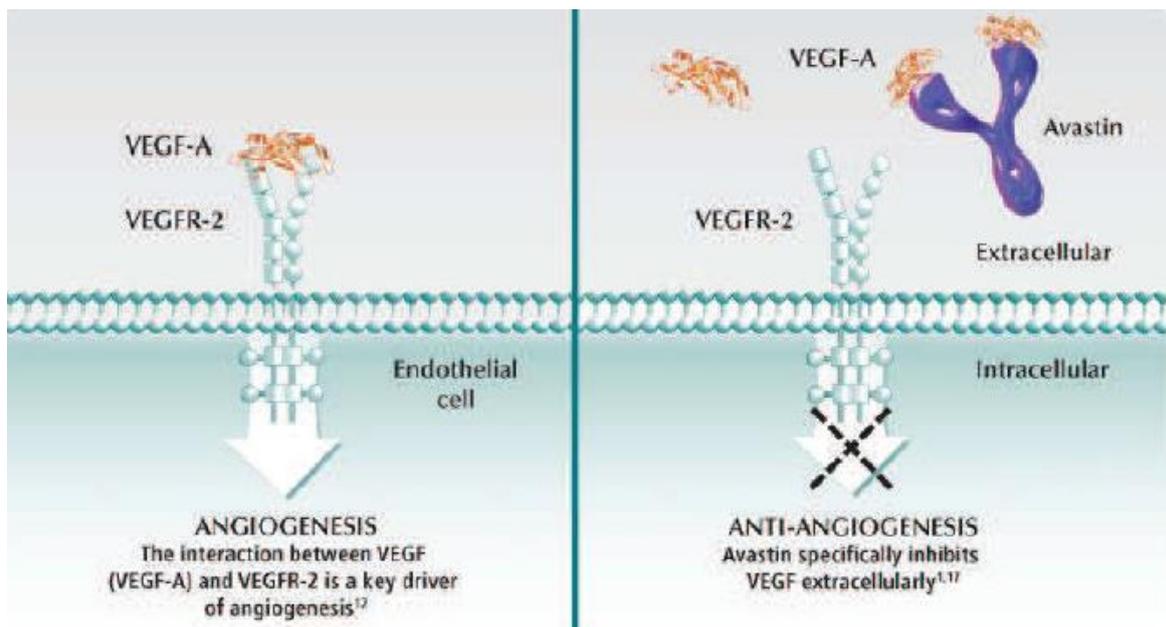


Figure 21: Mécanisme d'action du Bevacizumab (Saillard, 2014).

I.3.1.4. Indication

L'indication du Bevacizumab dans le cancer du sein a été retirée récemment aux Etats Unis par la FDA pour manque de preuve, l'indication reste validée dans le cancer bronchique

non à petites cellules, en première ligne, en association avec un sel de platine et du paclitaxel, dès lors que l'histologie n'est pas à prédominance épidermoïde (GOUBET et *al.*, 2018).

I.3.1.5. Efficacité clinique

L'ajout de Bevacizumab au 5-fluorouracile en administration intraveineuse a été évalué dans la chimiothérapie. Dans ces études, les paramètres d'intérêt sont la survie globale, la survie libre de progression, le taux de réponse tumorale et la durée de la réponse au traitement (HRIROU, 2011).

I.3.2. Ramucirumab

I.3.2.1. Définition

Le Ramucirumab est un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur VEGFR2 qui joue un rôle majeur dans l'angiogenèse tumorale et qui a démontré son efficacité dans le cancer gastrique métastatique (Baldacci, 2014).

Le Ramucirumab est un AcM ciblant spécifiquement le VEGFR2, acteur principal de l'angiogenèse tumorale. Cette spécificité différencie Ramucirumab de ses prédécesseurs anti VEGF qui ont des actions biologiques diffuses en ciblant une ou plusieurs iso formes de VEGF circulant(s) (Bevacizumab et Aflibercept) et permet ainsi de limiter les toxicités habituelles des anti-Angiogéniques. Le Ramucirumab a été évalué sur un très large panel de types histologiques et selon plusieurs modalités d'association. Malgré ce développement à grande échelle, les autorisations d'accès au traitement par Ramucirumab sont vivement débattues. Sur le plan international, la FDA a déjà autorisé la molécule dans 3 localisations, s'appuyant sur les données des phases III significatives : adénocarcinome gastrique seul ou en association au Paclitaxel (étude RAINBOW et REGARD), carcinome bronchique non à petites cellules métastatique, en association au Docétaxel (étude REVEL) et CRCm en association au FOLFIRI (étude RAISE) (GOUBET et *al.*, 2018).

I.4. Anticorps anti-HER2

Le récepteur ErbB2/HER2 est un récepteur de 185 kDa décrit pour une première fois chez l'homme dans les années 1980. Celui-ci fait partie de la famille des ErbB/HER qui inclue 4 récepteurs tyrosine kinases (EGFR/ErbB1/HER1, ErbB2/Neu/HER2, ErbB3/HER3 et 49 ErbB4/HER4) avec une homologie partielle (Martin, 2018).

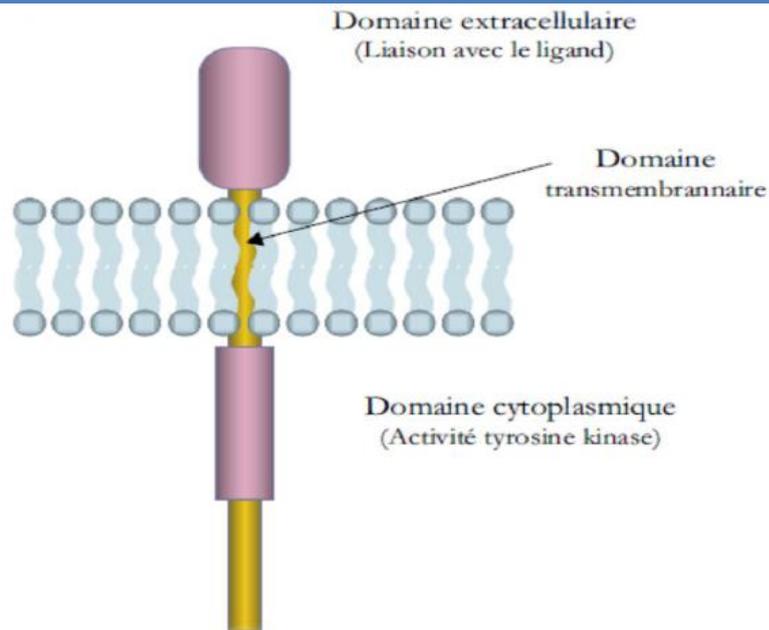


Figure 22: Structure générale des récepteurs à activité tyrosine kinase (HRIROU, 2011).

En conditions physiologiques, ces récepteurs jouent un rôle crucial dans la régulation de la prolifération cellulaire, la différenciation, la motilité ainsi que l'apoptose. Le récepteur EGFR est souvent muté dans plusieurs types de cancers incluant le cancer du sein. Cependant, c'est le récepteur ErbB2/HER2 qui prédomine la famille ErbB avec une amplification génique dans 30% des cancers du sein primaire par une augmentation de 2 à 20 fois du nombre de copies du gène (Martin, 2018).

Chez l'homme, aucune mutation n'est nécessaire pour conférer un potentiel oncogénique où l'amplification génique est généralement de type sauvage. Outre le cancer du sein, ce récepteur peut également être surexprimé via une amplification génique ou une mutation dans le cancer de l'ovaire. Plusieurs cas ont également été rapportés dans d'autres types de cancers (Martin, 2018).

I.4.1. Trastuzumab (Herceptin®)

I.4.1.1. Définition

Le Trastuzumab (Herceptin) est un anticorps monoclonal IgG1 humanisé inhibiteur du récepteur ErbB2/HER2. Son utilisation thérapeutique représente une avancée considérable dans le traitement des patientes surexprimant HER2 en situation aussi bien métastatique qu'adjuvante ou néoadjuvante. Il a d'emblée été utilisé chez les patientes qualifiées de HER (2+), soit HER2 (3+) en immunohistochimie (Martin, 2018).

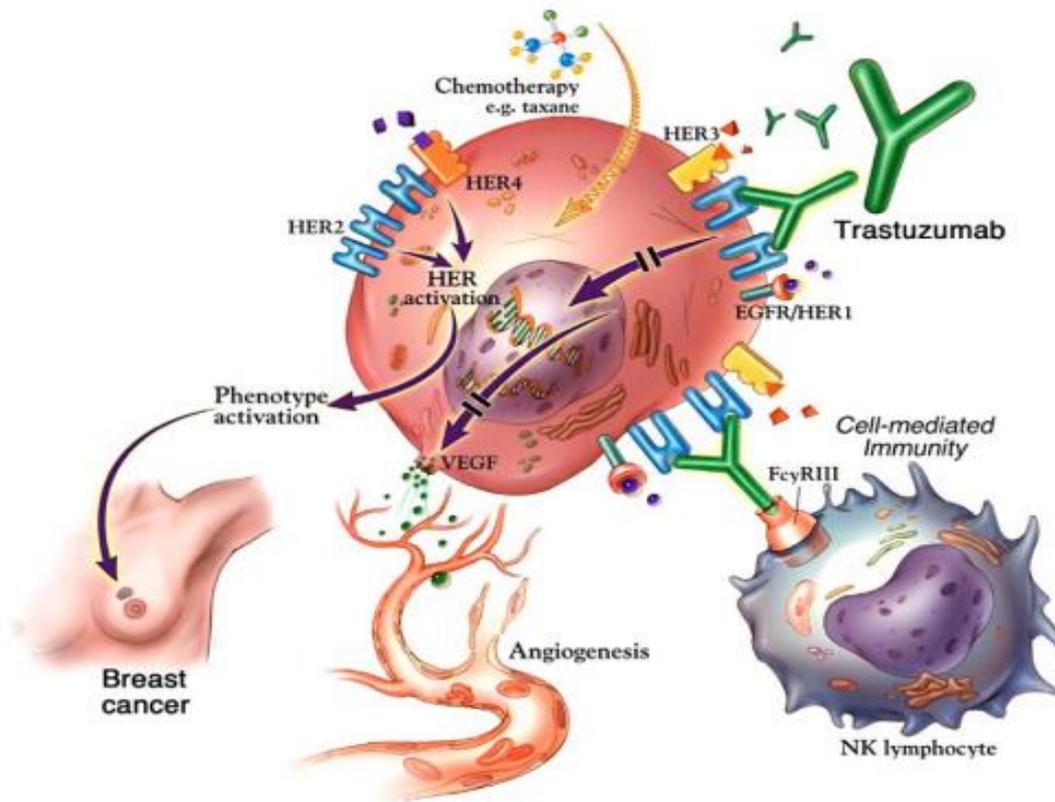


Figure 23: Mécanismes d'action proposés de Herceptin (Trastuzumab) (Rita, 2006).

I.4.1.2. Mode d'action

Cet Anticorps se lie au domaine IV du récepteur HER2 et bloque l'homodimérisation inhibant ainsi sa signalisation intracellulaire. Par la suite, plusieurs autres mécanismes d'actions complémentaires ont été découverts (Figure 24). Cet anticorps a la propriété d'internaliser ErbB2 par sa liaison au domaine IV permettant sa dégradation. Il a également été démontré que cet anticorps peut bloquer l'hétérodimérisation d'une sous-unité HER2 avec la sous-unité HER3. Un autre mécanisme d'action du Trastuzumab est l'inhibition du clivage du récepteur empêchant ainsi la formation de p95HER2, une forme du récepteur tronqué très active. Il y a aussi quelques évidences précliniques démontrant que le Trastuzumab a des propriétés Antiangiogéniques par la normalisation et la régression de la vascularisation en diminuant la production de VEGF. Cependant, une étude clinique de phase III évaluant le Bevacizumab, un anticorps monoclonal anti-VEGF-A, comme ajout au Trastuzumab en première ligne de traitement n'a démontré aucune amélioration significative. De plus, le Trastuzumab a la capacité d'induire la Cytotoxicité cellulaire dépendant d'un anticorps (ADCC). En effet, l'activation des cellules NK, monocytes et macrophages exprimant le récepteur Fc gamma (ex : CD16) reconnaissent le domaine Fc de l'anticorps lié aux cellules

Cancéreuses. Par la suite, ces cellules immunitaires relâchent des cytokines et des granules cytotoxiques provoquant ainsi l'apoptose et la lyse des cellules tumorales reconnue par le Trastuzumab (Martin, 2018).

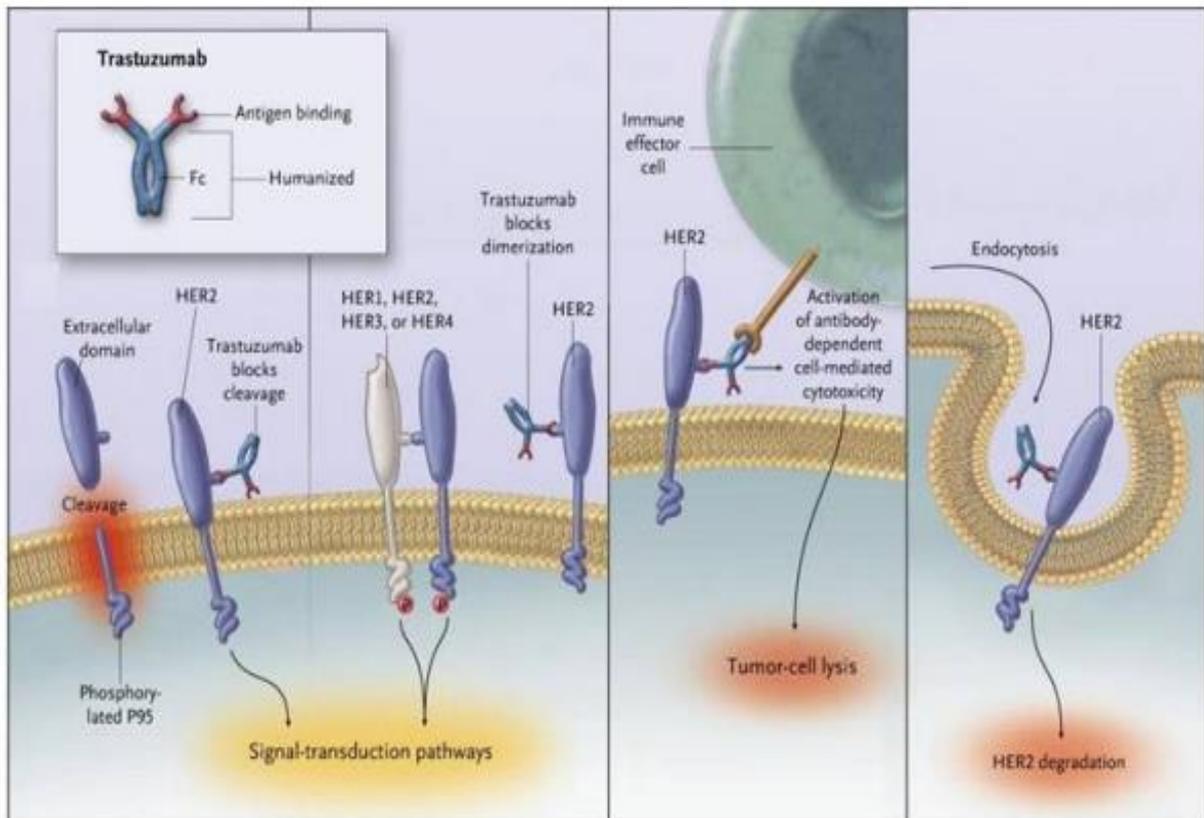


Figure 24: Mécanismes d'action du Trastuzumab (Martin, 2018).

I.4.1.3. Association de Trastuzumab à la Chimiothérapie

En combinaison avec la chimiothérapie, ce traitement a révolutionné les résultats cliniques des patientes avec une tumeur surexprimant fortement la protéine HER2 ciblant le domaine extracellulaire de HER2. Deux études cliniques de phase II ont déterminé que le Trastuzumab est sécuritaire et efficace. Finalement, une étude clinique de phase III incluant 469 patientes a démontré des résultats cliniques d'efficacité significatifs avec une augmentation du temps avant la progression de la maladie de 7,4 mois pour le groupe traité au Trastuzumab comparativement à 4,6 mois pour le groupe contrôle sans Trastuzumab. Ces résultats cliniques ont permis l'approbation de ce traitement par l'U.S Food and Drug Administration

(FDA) en 1998 contre le cancer du sein métastatique HER2+, et plus tard en 2006 comme adjuvant à la chimiothérapie (Figure 25) (Martin, 2018).

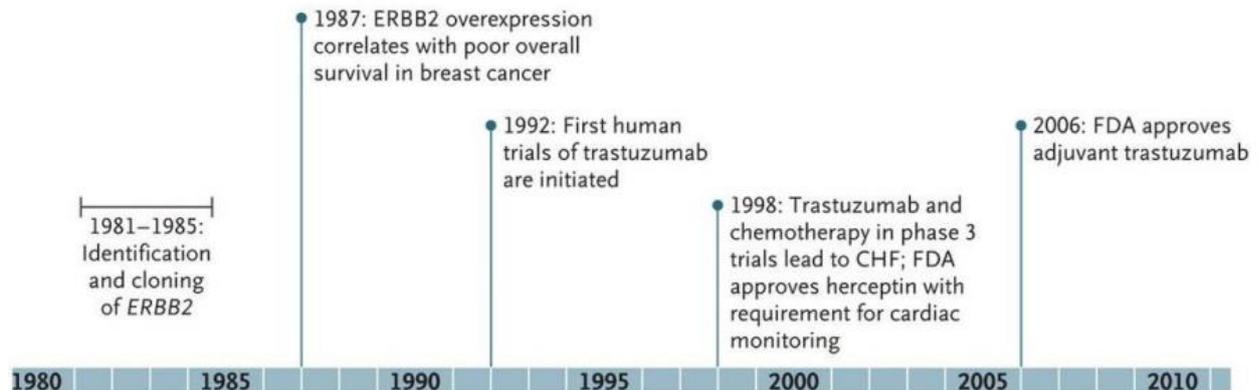


Figure 25 : Historique du Trastuzumab (Martin, 2018).

L'addition de cet anticorps aux Anthracyclines a vu le nombre de rechutes du cancer du sein diminuer de 50 % et la mortalité de 33 %. Cependant, malgré des résultats cliniques incroyables, les réponses thérapeutiques sont habituellement de courtes durées suggérant le développement d'une résistance (Martin, 2018).

I.4.1.4. Trastuzumab et Système Immunitaire

Outre le système immunitaire inné, le système immunitaire adaptatif est également important dans la réponse thérapeutique du Trastuzumab avec les lymphocytes T CD8+ clairement associés à une meilleure survie chez les patientes atteintes du cancer du sein HER2+ (Ali et *al.*, 2014).

I.4.2. Pertuzumab

I.4.2.1. Définition

Le Pertuzumab est un anticorps monoclonal humanisé recombinant qui se lie au domaine 2 de Dimérisation de l'ErbB2/HER2 qui est localisé sur le côté opposé au domaine 4 où se lie le Trastuzumab (Hervent et Keulenaer, 2012).

I.4.2.2. Mode d'action

Le Pertuzumab, est un autre anticorps monoclonal qui inhibe la Dimérisation de HER2 en se liant à la partie extracellulaire au niveau du domaine de liaison de la protéine et inhibe ainsi l'activation des voies de signalisation HER2-dépendantes. D'un point de vue mécanistique, Deux Acm peuvent être synergiques s'ils ciblent deux épitopes différents avec des actions différentes et complémentaires. De plus, le blocage prolongé de HER2 par le Trastuzumab peut augmenter l'expression des autres sous-types de l'EGFR et autoriser alors la signalisation par des Hétérodimères HER2/HER3-HER2/HER4 ou des Homodimères sans HER2. Ainsi, l'utilisation d'un double ciblage sur HER2 pourrait induire un meilleur recrutement des cellules NK au sein du microenvironnement (GOUBET *et al.*, 2018).

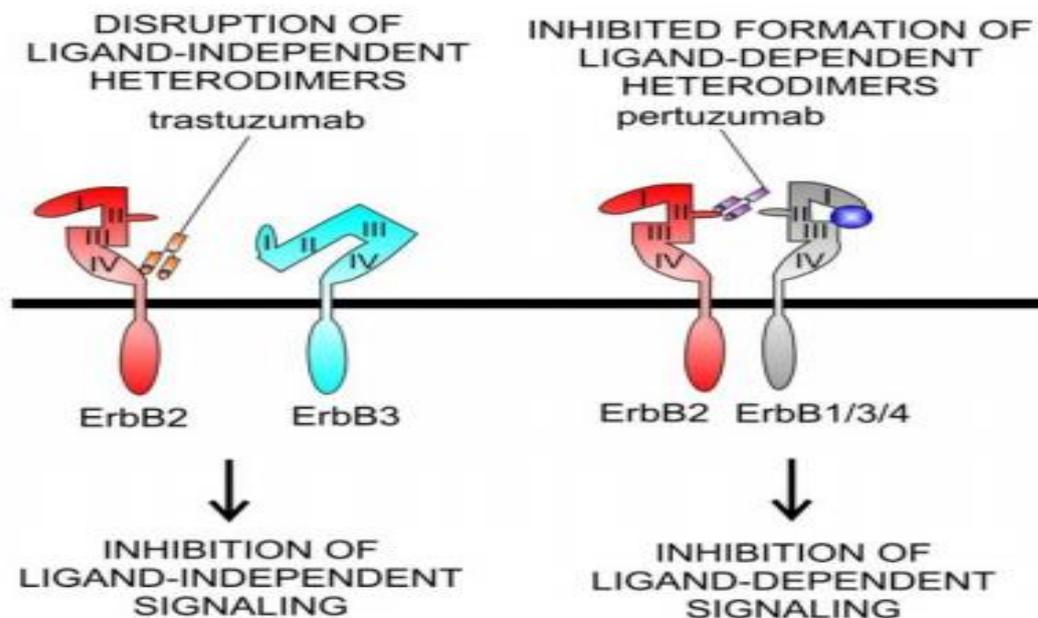


Figure 26 : Liaison du Trastuzumab vs Pertuzumab (Martin, 2018).

I.4.3. Trastuzumab-Emtansine

I.4.3.1. Définition

Le Trastuzumab emtansine ou T-DM1 est un anticorps conjugué à une drogue (ADC) développé par Roche. Un lien covalent relie le Trastuzumab au DM1 un agent cytotoxique (Martin, 2018).

L'Anticorps T-DM1 composé d'une molécule de Trastuzumab couplée à trois molécules de Maytansine. La Maytansine est un agent cytotoxique qui inhibe la polymérisation de la tubuline. Il s'agit d'une double thérapie ciblée qui grâce à l'anticorps permet de vectoriser la chimiothérapie cytotoxique engendrant ainsi une lyse cellulaire sélective (GOUBET et *al.*, 2018).

I.4.3.2. Mode d'action

Une fois l'anticorps internalisé par les cellules tumorales via l'endocytose et traité, le DM1 se lie à la tubuline et inhibe la formation des microtubules menant à l'interruption de la mitose et éventuellement à l'apoptose. Le DM1 ainsi que ces métabolites doivent atteindre un certain seuil de concentrations intracellulaire avant de déclencher la mort cellulaire. Ainsi, les principaux mécanismes de résistance associés au T-DM1 empêchent l'accumulation intracellulaire de la drogue cytotoxique (Martin, 2018).

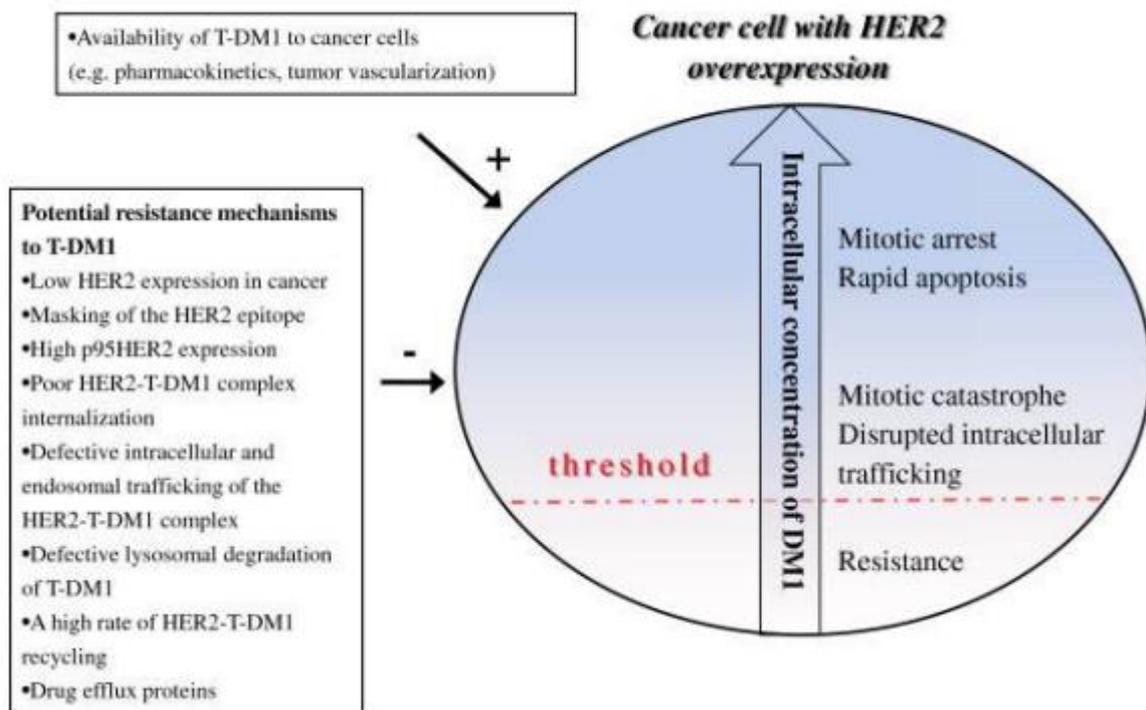


Figure 27 : Mécanismes de résistance du T-DM1 (Barok et *al.*, 2014).

I.4.3.3. Combinaison entre le Trastuzumab et la Duocarmycine

D'autres ADC sont présentement en développement, tel le SYD985 développé par la compagnie Synthron. Cet ADC est la combinaison entre le Trastuzumab et la Duocarmycine. Malgré la pharmacocinétique similaire entre avec le T-DM1, le SYD985 a été démontré beaucoup plus efficace dans des modèles *in vitro* et *in vivo* (PDX) avec une faible expression du récepteur ErbB2/HER2 (Dokter et *al.*, 2014, van der Lee et *al.*, 2015).

I.4.4. Lapatinib

I.4.4.1. Définition

Le Lapatinib est une petite molécule inhibitrice des récepteurs tyrosine kinases et est un analogue de l'ATP. Ce produit se lie de façon réversible à la partie intracellulaire du récepteur ErbB2/HER2 au site de liaison à l'ATP (Hervent et *al.*, 2012).

I.4.4.2. Combinaison Trastuzumab-Lapatinib

Une étude clinique de phase III a démontré que les patientes atteignant une réponse complète avec la combinaison Trastuzumab –Lapatinib ont une meilleure survie globale que les patientes traitées seulement au Trastuzumab d'où son utilisation en clinique comme ajout au Trastuzumab (Azambuja et *al.*, 2014).

Contrairement au Trastuzumab, le Lapatinib inhibe la signalisation constitutive ainsi que la signalisation dépendant de ligands (Martin, 2018).

I.4.4.3. Indication

Ce traitement permet également d'inhiber les cellules tumorales résistantes exprimant p95ErbB2. Finalement, le Lapatinib est une option thérapeutique pour les métastases au cerveau étant donné sa capacité à traverser la barrière hématoencéphalique (Taskar et *al.*, 2012, Saleem et *al.*, 2015).

Tableau IV : Résumé des mécanismes d'action du Trastuzumab, du Pertuzumab et du Lapatinib (Martin, 2018).

	Trastuzumab	Pertuzumab	Lapatinib
Effets sur l'expression de ErbB2/HER2	Diminution de l'expression de HER2; blocage du clivage; suppression de la formation de p95HER2		Augmentation de l'expression total de HER2 à la surface cellulaire
Effets sur la dimérisation	Perturbation partielle de la dimérisation	Perturbation de la dimérisation avec les autres récepteur ErbB	
Effets sur la signalisation intracellulaire	Inhibition de la signalisation PI3K et MAPK	Inhibition de la signalisation PI3K et MAPK	Inhibition de la signalisation PI3K et MAPK
Effets immunitaires	Stimule l'ADCC	Stimule l'ADCC	
Effets sur le cycle cellulaire	Induction de p27 et p21; Inhibition de cdk2	Induction de p27 et p21; Inhibition de cdk2	Induction de p27; Inhibition de cdk2
Effet sur l'apoptose	Diminution de Bcl-2, survivin et Mcl-1	Induit l'apoptose (mécanismes inconnues)	Diminution de survivin et Mcl-1; Augmentation de BIM et Fox03a

I.5. Anticorps anti RANK-L

La signalisation induite par l'interaction de l'activateur du récepteur du ligand du facteur nucléaire kappa-B (RANKL), membre de la famille des cytokines du facteur de nécrose tumorale (TNF), avec son récepteur, l'activateur du récepteur du facteur nucléaire kappa-B (RANK), participe à toutes les étapes du développement de la tumeur au sein; de la formation initiale de la tumeur à la migration des cellules cancéreuses et aux métastases subséquentes. Le cancer du sein est le cancer le plus répandu chez les femmes, avec une incidence d'environ 1,7 million de nouveaux cas dans le monde. Dans le cancer du sein métastatique, l'os est le site secondaire le plus fréquent, impliqué chez environ 70% des patientes. Les cancers de la prostate, des poumons, des reins et de la thyroïde se métastasent souvent jusqu'à l'os. Les métastases osseuses peuvent entraîner une morbidité grave et une baisse de qualité de vie consécutive en induisant des événements liés au squelette (SRE). Définis comme fractures pathologiques, nécessité d'une chirurgie orthopédique, nécessité d'une radiothérapie pour compression de l'os ou de la moelle épinière. L'espérance de vie prolongée pose des défis pour la gestion du cancer du sein avancé et des cancers des cellules souches. Bien que les bisphosphonates soient utilisés avec succès depuis de nombreuses années pour prévenir et gérer ces RED, le Denosumab a également été enregistré à cette fin et est de plus en plus utilisé (Groot et *al.*, 2018).

I.5.1. Denosumab

I.5.1.1. Définition

Le Denosumab est un anticorps monoclonal humain IgG2 génétiquement modifié dans des cellules ovariennes de hamster. Il a une haute affinité et spécificité pour l'activateur des récepteurs humains du ligand du facteur kappa-B nucléaire (RANKL), principal régulateur de la résorption osseuse ostéoclastique. Le Denosumab se lie à RANKL, empêchant ainsi RANKL d'activer son récepteur, RANK, à la surface des ostéoclastes et de leurs précurseurs. Cela inhibe la formation, la fonction et la survie des ostéoclastes, réduisant ainsi la résorption osseuse (Zaheer et *al.*, 2015).

Le Denosumab, comparativement à l'acide zolédronique dans le cancer du sein, de la prostate et les autres cancers métastasant dans les os, a amélioré la prévention des premiers événements affectant le squelette (fracture pathologique, nécessité d'une irradiation osseuse, nécessité d'une chirurgie osseuse, tassement vertébral et compression médullaire) (GOUBET et *al.*, 2018).

I.5.1.2. Mode d'action

Denosumab, anticorps monoclonal humain qui inhibe sélectivement l'activation du récepteur RANK des ostéoclastes réduisant la résorption osseuse (Claire et Tomas, 2019). RANKL est sécrété par les ostéoblastes, ostéocytes, cellules de revêtement osseux et cellules du stroma osseux, activant les ostéoclastes qui provoquent la résorption osseuse. Des facteurs de croissance tels que TGF- β et IGF-1 sont ensuite libérés, qui stimulent la prolifération des cellules cancéreuses et libèrent des facteurs de résorption osseuse tels que PTHrP et Les ostéoblastes stimulant l'IL-6 et d'autres cellules productrices de RANKL sécrètent davantage de RANKL. L'inhibition de RANKL peut interrompre ce cycle (Figure 28) (9).

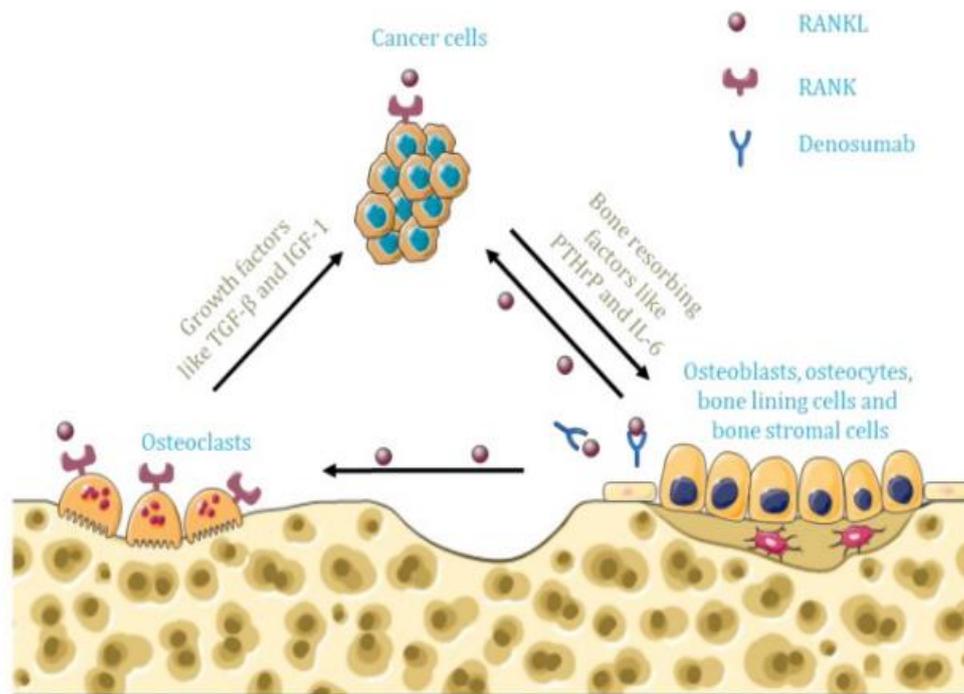


Figure 28: Cercle vicieux (Groot et al., 2018).

I.5.1.3. Denosumab et le Système Immunitaire

Ces Anticorps Monoclonaux ciblant les antigènes exprimés sélectivement par les tumeurs ne sont donc pas seulement des immunothérapies passives. Le mécanisme d'action de certains de ces anticorps monoclonaux, dont les plus efficaces, repose sur l'initiation d'une réponse immunitaire adaptative, par ADCC et/ou induction d'une mort cellulaire immunogène notamment. Sous-jacent au rôle majeur de la réponse immunitaire dans l'efficacité antitumorale des traitements, le concept thérapeutique a dernièrement été bouleversé cherchant à cibler non plus les cellules tumorales mais aussi les cellules immunitaires. Ainsi les AcMs sont désormais aussi utilisés comme agents immunomodulateurs de la réponse immunitaire anti-tumorale. Ces nouvelles cibles, des inhibiteurs ou activateurs du système immunitaire, démultiplient le potentiel thérapeutique en termes de combinaison de traitements et de marqueurs prédictifs d'efficacité (GOUBET et al., 2018).

I.5.1.4. Effets Indésirables Principaux

Dyspnées, infections urinaires et des voies respiratoires supérieures, sciatique, cataracte, constipation, éruption cutanée, douleurs des membres, hypocalcémie sévère, diarrhée, rare ostéonécrose de la mâchoire, fractures atypiques (Claire et Tomas, 2019).

II. Anticorps exerçant des effets immunomodulateurs direct

L'immunothérapie agit principalement sur le système immunitaire du patient pour le rendre apte à attaquer les cellules cancéreuses. Dans ce domaine, l'offre des médicaments anticancéreux a été récemment bouleversée par la mise sur le marché de nouveaux médicaments d'immunothérapie spécifique, les inhibiteurs de points de contrôle (anti-PD-1, anti-PD-L1, anti-CTLA-4) dont le mécanisme d'action est illustré ci-dessous (figure 29).

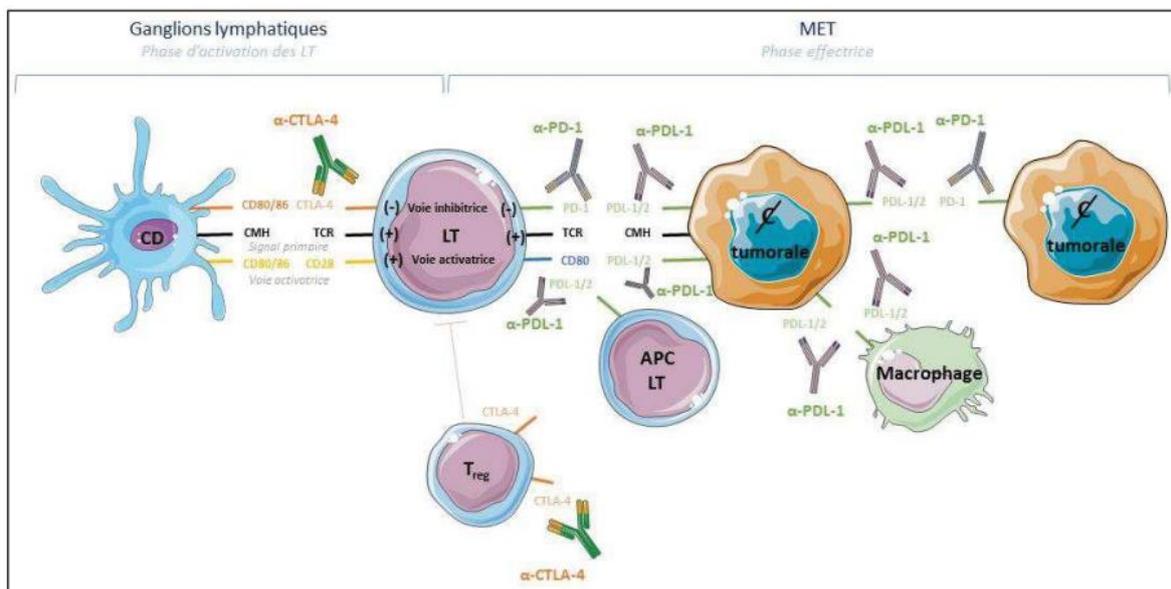


Figure 29 : Mécanismes des inhibiteurs de points de contrôles immunitaires (Laetitia, 2018).

Ces médicaments permettent de bloquer les « freins de l'immunité » (PD-1, PD-L1, CTLA-4) et donc de réactiver le système immunitaire afin que celui-ci lutte plus efficacement contre les cellules tumorales. À court terme en France, d'autres immunothérapies spécifiques, cette fois de thérapie cellulaire et génique et bénéficiant du statut de médicament de thérapie innovante (MTI), les cellules CAR-T (Chimeric Antigen Receptor-T, CAR-T Cells), viendront compléter cet arsenal (Hélène et al., 2019).

Un développement clinique riche des inhibiteurs de points de contrôle et des cellules CAR-T est intense. Une extraction sur clinicaltrials.gov réalisée en juillet 2017 a permis d'identifier plus de 1500 essais cliniques en cours dans le monde, évaluant :

- quinze anti-PD-1 dans 733 essais cliniques, 83 en phase III.

- huit anti-PD-L1 dans 311 essais cliniques, 50 en phase III.
- trois anti-CTLA-4 dans 282 essais cliniques, 39 en phase III.
- trente-quatre cibles différentes visées par des cellules CAR-T dans 189 essais cliniques (dont 86 ciblant CD19). Cela représente plus de 285 000 patients inclus ou à inclure (Hélène et *al.*, 2019).

II.1. Anticorps Anti CTLA4

Le CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4) ou CD152 est une protéine exprimée à la surface du lymphocyte T (LT) et impliquée dans la tolérance périphérique. Le CTLA-4 a une plus forte affinité pour les molécules B7 (CD80/B7.1 et CD86/B7.2) des cellules présentatrices d'antigènes que le CD28 (Figure 30). Il entre en compétition avec ce dernier inactivant les LT. Ainsi, le blocage de CTLA-4 induit à la fois la réactivation, la différenciation T (Th1, Th2, Th17, T régulateur), la prolifération et la survie des LT effecteurs contre les cellules tumorales. De plus, le CTLA-4 est une molécule fortement exprimée par les LT régulateurs (Treg). Son blocage induit une levée de l'immunorégulation également à l'origine des propriétés anticancéreuses de ce type de traitement (Vozy et Coutzac, 2016).

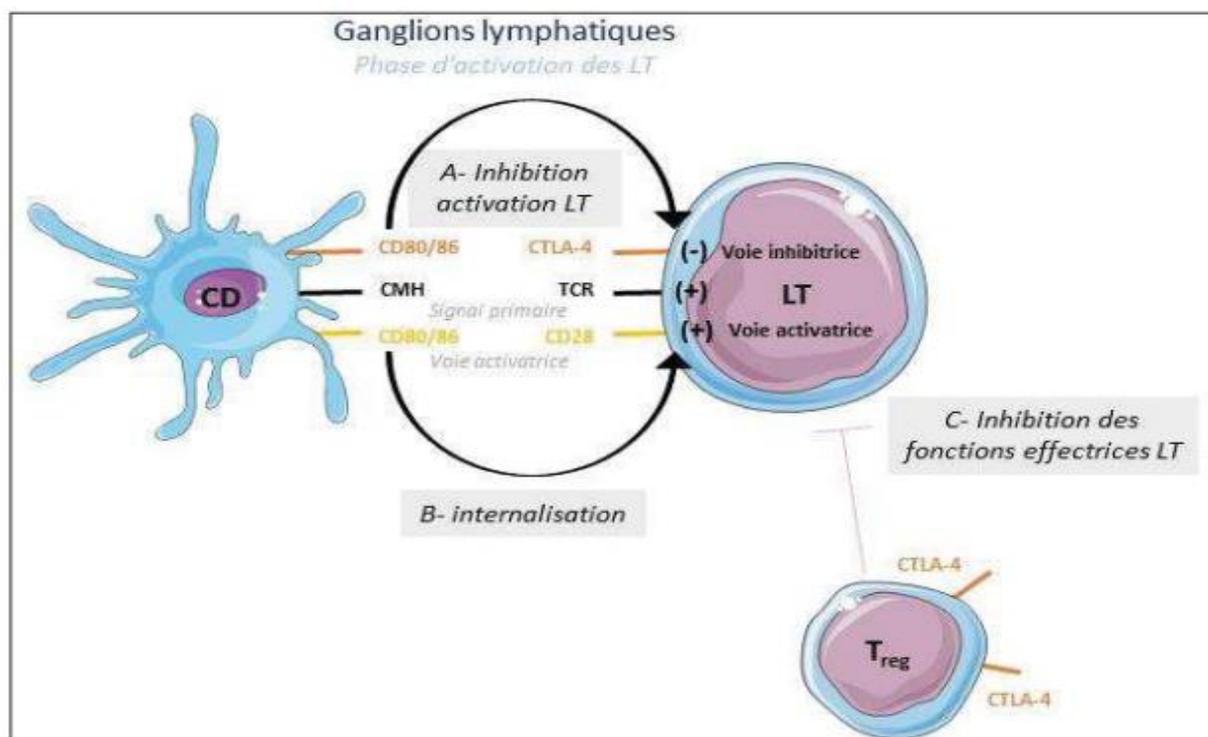


Figure 30: Axe CTLA-4/CD80-CD86 (Laetitia, 2018)

II.1.1. Ipilimumab

II.1.1.1. Définition

L'Ipilimumab est un anticorps monoclonal humain de la sous-classe des IgG1, qui se lie spécifiquement à l'antigène 4 associé aux lymphocytes T cytotoxiques, (CTLA-4) et qui s'administre par voie intraveineuse. En bloquant cet antigène, l'Ipilimumab réduit le mécanisme naturel d'inhibition du système immunitaire, ce qui permet aux cellules effectrices du système immunitaire de maintenir leur activité contre les cellules tumorales (OPDIVO et YERVOY, 2017 ; Johnson et *al.*, 2016).

L'Ipilimumab a ainsi obtenu l'AMM en France en 2011 sous le nom de Yervoy® (Cecile, 2016).

II.1.1.2. Mode d'action

CTLA4, molécule exprimée à la surface des lymphocytes T actives, interagit avec CD80 et CD86 situées à la surface des cellules présentatrices de l'antigène entraînant un signal d'inactivation du lymphocyte T. L'Ipilimumab est un anticorps monoclonal qui, en bloquant le CTLA4, levé ce frein inhibiteur physiologique et restaure ainsi l'activation des lymphocytes. Initialement, deux anticorps monoclonaux bloquant le CTLA4 étaient en développement: le Tremelimumab (IgG2, Pfizer) et l'Ipilimumab (IgG1, BMS). Suite aux résultats négatifs de la phase III d'enregistrement pour le Tremelimumab, seul l'Ipilimumab a par la suite été approuvé dans le traitement du mélanome métastatique (Cecile, 2016). Bien que le mécanisme d'action exact de cette immunothérapie reste à l'heure actuelle encore débattu (inhibition/déplétion des lymphocytes T régulateurs, blocage de récepteurs inhibiteurs exprimés par les lymphocytes T au sein de la tumeur ou lors de leur activation), le blocage du CTLA-4 par l'anticorps permet de stimuler des réponses immunitaires spécifiquement dirigées contre des antigènes tumoraux (Figure 31) (GOUBET et *al.*, 2018).

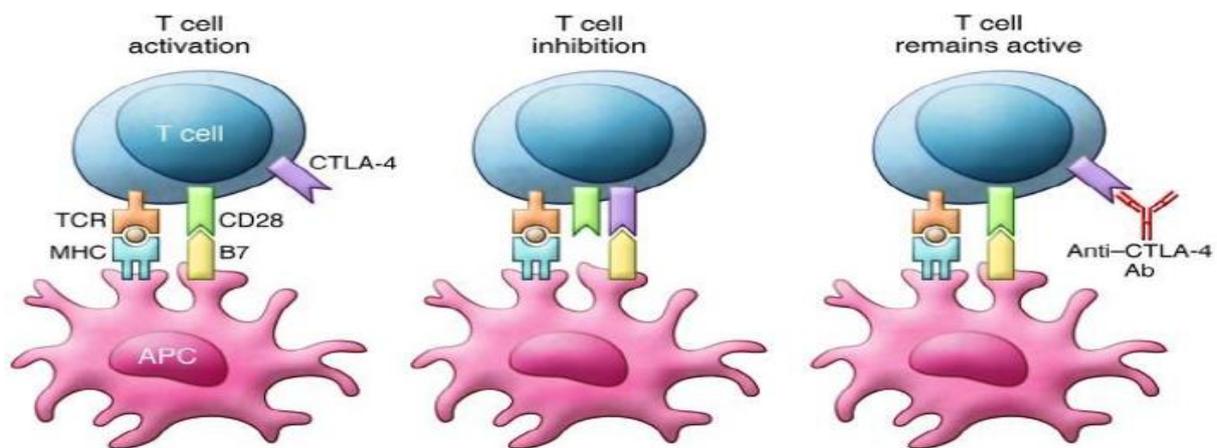


Figure 31: Mécanisme d'action des anti-CTLA-4 (Domitille, 2017).

II.1.1.3. Indication

L'Ipilimumab est un pionnier dans la génération nouvelle d'immunothérapie efficace car il s'agit du premier traitement à avoir montré une amélioration de la survie globale des patients porteurs de **mélanome métastatique** (Cecile, 2016).

II.1.1.4. Effets indésirables

Les effets indésirables de l'Ipilimumab sont le plus souvent de nature immunologique, dont 15 à 30 % de grade 3 ou 4. Ils sont principalement cutanés, digestifs (avec en particulier des colites inflammatoires ressemblant à des maladies de Crohn), hépatiques ou endocriniens, et nécessitent une vigilance particulière afin de ne pas retarder le traitement qui repose essentiellement sur les corticoïdes (Longvert et Saiag, 2018).

Son utilisation peut entraîner une rémission à long terme, mais aussi risques induisant des effets indésirables liés au système immunitaire. Bien que la plupart des effets indésirables sont bénins, le plus grave événement indésirable potentiellement mortel est la développement de la toxicité gastro-intestinale. La diarrhée survient chez 35% des patients traités par Ipilimumab, notamment des cas de colite sévère et de perforation nécessitant une colectomie. La fréquence des effets indésirables liés à l'immunité observés lors du retraitement s'est avéré être semblable à celui observés pendant le premier traitement et les effets indésirables en traitement se produisent généralement sans incidence de nouveaux types de toxicité. Les facteurs prédisant le risque de la toxicité chez les patients a fait l'objet d'études moins approfondies et les recherches portent principalement sur les biomarqueurs qui prédisent la réponse clinique (Majenka et *al.*, 2019).

II.1.2. Tremelimumab

Le Tremelimumab est un anticorps monoclonal anti-CTLA-4, de type IgG2 est actuellement à l'étude dans diverses indications (mélanome, cancer bronchique). La colite induite par l'anticorps anti-CTLA-4 est la toxicité la plus fréquente, avec une incidence qui varie selon les études de 5 à 22 % tous grades confondus et de 1 à 17 % de grades III–IV. Des cas de perforations ont été recensés jusqu'à 5,8 % sous Ipilimumab, et la mortalité liée à la colite peut atteindre 1,3 % sous Ipilimumab et 5,5 % sous Tremelimumab. Il a été mis en évidence un effet-dose de l'Ipilimumab sur l'incidence des effets secondaires, dont la colite pour les patients atteints d'un mélanome métastatique (Vozy et Coutzac, 2016).

II.2. Anticorps Anti PD-1 ou PDL1

Le PD-1(Récepteur Programmed Cell Death Protein 1 (PD-1 ou PDCD1)) est une molécule de costimulation exprimée par les lymphocytes T activés et lorsqu'il est engagé avec son ligand, le PD1 ligand ou PD-L1 (également désigné CD274 ou B7-H1), il est à l'origine d'un signal inhibiteur inhibant transitoirement ou définitivement les capacités cytotoxiques des lymphocytes T et pouvant induire leur apoptose. De fait, l'expression de PD-1 par une cellule immunitaire peut témoigner de son état activé ou épuisé (« exhausté ») selon l'environnement tumoral. PD-L1 peut être exprimé par les cellules du stroma, mais aussi par les cellules tumorales qui exploitent ainsi les propriétés immunosuppressives du checkpoint immunitaire PD-1/PD-L1 afin d'échapper à la surveillance immunitaire (Michaël et *al.*, 2017).

La liaison des ligands au récepteur PD-1 situé à la surface des lymphocytes T limite l'activité et la surveillance immunologique de ces derniers dans les tissus périphériques ainsi que la production de cytokines. En inhibant cette liaison, les inhibiteurs de PD-1 (ex: Pembrolizumab, Nivolumab) et les inhibiteurs de PD-L1 (ex. : Atezolizumab) permettent l'activation des lymphocytes T cytotoxiques spécifiques à la tumeur dans le microenvironnement tumoral et réactivent la réponse immunitaire antitumorale (Figure 32) (Cecile, 2016).

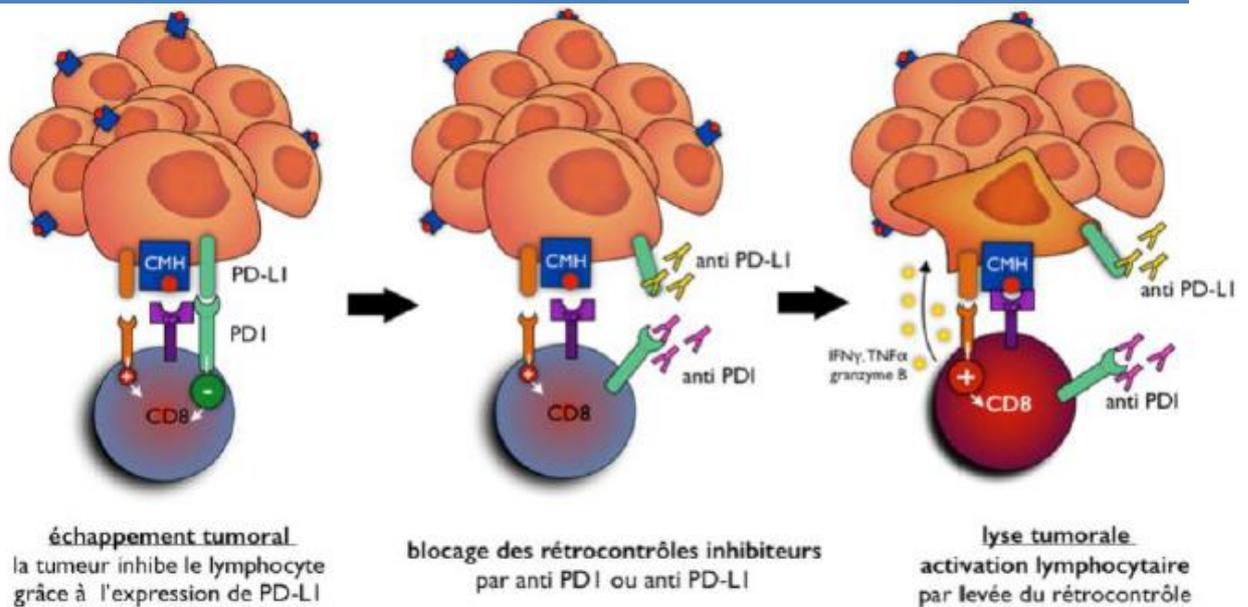


Figure 32 : Mécanisme d'action des anti-PD1 (Domitille, 2017).

II.2.1. Indication de L'anti PD-1 et PD-L1

Le développement d'anticorps ciblant l'interaction entre le récepteur de mort cellulaire programmé 1 (PD-1) et ses ligands (PD-L1 et 2) produits par les cellules tumorales a mené à des développements significatifs dans le pronostic de patients souffrant de divers types de néoplasies solides tels que le mélanome métastatique, le cancer du poumon non à petites cellules, le carcinome rénal, le lymphome de Hodgkin, les carcinomes de la tête et du cou, de même que les néoplasies de la vessie (Cecile, 2016).

Une vingtaine de localisations sont concernées par le développement des inhibiteurs de points de contrôle. Pour les anti-PD1, les deux cancers majoritairement concernés en phase III sont le cancer du poumon et le mélanome, ce qui correspond aux deux localisations dans lesquelles le Nivolumab (Opdivo®) et le Pembrolizumab (Keytruda®) ont reçu leur première autorisation de mise sur le marché (AMM) (Hélène et *al.*, 2019).

Tableau V : Principales indications des anticorps ciblant les molécules de costimulation inhibitrices CTLA-4 ou PD-1 (Granier et al., 2016).

Nom de l'anticorps	Indication clinique ^a
<i>Cible CTLA-4</i>	
Ipilimumab (Yervoy®)	Mélanome avancé (non résecable ou métastatique) en 1 ^{re} ligne de traitement chez des patients sans mutation de BRAF
Ipilimumab (Yervoy®)	Traitement adjuvant des mélanomes de stade III après la chirurgie
Trémélimumab	Mésothéliome malin avancé résistant à la chimiothérapie
<i>Cible PD-1</i>	
Nivolumab (Opdivo®)	Mélanome avancé (non résecable ou métastatique) en 1 ^{re} ligne chez des patients sans mutation de BRAF
Pembrolizumab (Keytruda®)	Mélanome avancé (non résecable ou métastatique)
Nivolumab (Opdivo®)	Cancer du poumon épidermoïde avancé ou métastatique après une 1 ^{re} ligne de chimiothérapie.
Nivolumab (Opdivo®)	Adénocarcinome du poumon avancé ou métastatique après une 1 ^{re} ligne de chimiothérapie.
Pembrolizumab (Keytruda®)	Cancer du poumon non à petites cellules (épidermoïde ou adénocarcinome) avancé ou métastatique en progression après 1 ^{re} ligne de chimiothérapie ou de thérapie ciblée avec un test positif pour l'expression de PD-L1.
Nivolumab (Opdivo®)	Cancer du rein avancé ou métastatique
<i>Cibles CTLA-4 et PD-1</i>	
Ipilimumab (Yervoy) et Nivolumab (Opdivo®)	Mélanome avancé (non résecable ou métastatique) en 1 ^{re} ligne chez des patients sans mutation de BRAF

II.2.2. Efficacité de l'anti PD-1

Les anti-PD-1 ont démontré leur efficacité ou sont en cours d'évaluation dans de nombreuses localisations, mais pour certains cancers, les développements ont été ralentis voire abandonnés en raison d'une activité insuffisante ou d'une toxicité inacceptable. Ainsi, par exemple, les développements actuels en phase III dans les cancers du sein et colorectaux sont restreints à des sous-groupes de patients où les anti-PD1 semblent actifs (cancer du sein triple négatif et cancer colorectal avec une instabilité micro satellitaire élevée). Certaines études évaluant le Pembrolizumab dans le myélome multiple en association à la

Dexaméthasone et aux médicaments immunomodulateurs (IMiD), ont par ailleurs été arrêtées en raison d'une augmentation du risque de décès. En outre, une part conséquente des essais cliniques concerne des associations comportant une ou plusieurs immunothérapies (Hélène et *al.*, 2019).

II.2.3. Anticorps anti-PD-1 dans le Mélanome

Deux premiers anticorps ciblant PD-1 ont été développés rapidement pour la prise en charge de mélanome métastatique. Ce sont : Pembrolizumab (MSD) et le Nivolumab (BMS). Les résultats spectaculaires de ces deux premiers anticorps ciblant PD-1 ont rapidement été apportés par deux études de phase III, toutes les deux publiées en 2015. L'une de ces études, appelée CheckMate-066, compare le Nivolumab à la Dacarbazine en première ligne de traitement chez les patients non porteurs de mutation de BRAF. L'étude a été très largement positive avec 73 % de patients vivants dans le bras Nivolumab contre 42 % dans le bras Dacarbazine après un an. Les deux AcMs sont donc devenus des standards de traitement chez cette population de patients ; ils ont par ailleurs fourni des résultats très intéressants dans d'autres cancers (GOUBET et *al.*, 2018).

II.2.3.1. Nivolumab et Pembrolizumab

Le Nivolumab est un anticorps monoclonal humanisé anti-PD-1, de type IgG4 est indiqué dans la prise en charge des CBNPC métastatiques, des cancers rénaux à cellules claires métastatiques en seconde ligne thérapeutique et du mélanome métastatique en monothérapie ou en combinaison avec l'Ipilimumab (Vozy et Coutzac, 2016).

Le Pembrolizumab est anticorps monoclonal anti-PD-1 de type IgG4 est utilisé dans la prise en charge des patients atteints d'un mélanome de stade III ou IV non muté BRAF en première ou deuxième ligne thérapeutique. Ils présentent également des toxicités inflammatoires digestives, dont l'incidence est d'environ 12 % tous grades confondus et 1 % de grades 3–4 (Vozy et Coutzac, 2016).

II.2.4. Anticorps anti-PD-1/PD-L1 dans le Cancer du Poumon

Aussi vite que leur développement dans le mélanome, ces biomédicaments ont également été testés dans d'autres indications thérapeutiques et plusieurs autorisations de mise sur le marché ont été obtenues, notamment chez les patients atteints de CBNPC métastatiques et chez les patients atteints de RCC (GOUBET et *al.*, 2018).

II.2.4.1. Atézolizumab

L'Atézolizumab est un anticorps IgG1 humanisé anti-PD-L1 qui a montré une efficacité dans les CBNPC au cours des essais thérapeutiques précoces (Michaël et *al.*, 2017).

II.2.5. Anticorps anti-PD-1/PD-L1 dans le Cancer de la Vessie

Jusqu'à très récemment, les possibilités thérapeutiques dans le cancer de la vessie étaient limitées avec essentiellement l'utilisation de différentes chimiothérapies cytotoxiques comme le Cisplatine. Depuis peu, les nouvelles immunothérapies donnent des résultats encourageants pour traiter cette pathologie. Plusieurs anticorps anti-PD-1 ou PD-L1 ont été étudiés et ont enrichi l'armement thérapeutique dans cette pathologie. Atezolizumab, anticorps anti-PD-L1, dans la cohorte 1 de l'essai IM vigor210 de patients non éligibles à la thérapie par sels de platine et traités en première ligne, a démontré un gain absolu de 4,8 mois de survie globale. L'Avelumab, un autre anticorps monoclonal bloquant PD-L1, déjà autorisé aux États-Unis pour le traitement des cancers à cellules de Merkel, a récemment obtenu l'indication en deuxième ligne dans les cancers Urothéliales. Nivolumab, anticorps anti-PD-1, a été étudié dans un groupe de patients atteints de carcinome urothélial après traitement à base de platine lors d'une étude de phase 2, démontrant un bénéfice clinique (GOUBET et *al.*, 2018).

Conclusion

L'immunothérapie des cancers a longtemps représenté une option thérapeutique marginale en cancérologie en dépit de forts arguments documentant le rôle du système immunitaire dans le contrôle de la prolifération des cancers. Ce paysage a été bouleversé avec l'arrivée récente d'anticorps ciblant ces molécules de costimulation inhibitrices exprimées par les LT, levant l'interaction entre PD-1 et PD-L1. Ces traitements activent le système immunitaire via une levée de mécanismes d'immunosuppression et font changer le paradigme des traitements anti-cancéreux qui jusqu'à présent ne ciblait que la cellule tumorale. Des résultats cliniques spectaculaires ont été obtenus dans différents types de cancers (mélanome, rein, poumon) avec une accélération des autorisations de mises sur le marché obtenues dans les 12 derniers mois. Plus de 16 types de cancers pourraient constituer de futures indications cliniques, ce qui est exceptionnel lorsqu'une nouvelle molécule est introduite dans l'arsenal thérapeutique. Différentes questions restent à résoudre pour augmenter l'impact clinique de ces traitements comme l'identification de biomarqueurs pour mieux sélectionner les patients et un choix rationnel de combinaison thérapeutique de ces molécules avec d'autres immunomodulateurs ou des traitements conventionnels (radiothérapie, chimiothérapie)

Après les succès des anticorps monoclonaux inhibant les points de contrôle immunologique CTLA-4 et PD-1, il y a maintenant une multiplication des essais cliniques en immunothérapie du cancer. Suite à ces premières preuves de concept, l'objectif est maintenant de découvrir quelles sont les meilleures synergies entre les différents agents thérapeutiques ainsi que de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques.

Résumé

Les anticorps monoclonaux sont parmi les produits pharmaceutiques qui se développent plus rapidement pour des essais cliniques. Les immenses progrès réalisés en biotechnologie et en particulier avec les techniques de recombinaison génétique permettant d'obtenir des anticorps monoclonaux murins, chimériques, humanisés et de plus en plus des anticorps monoclonaux totalement humains à l'aide de plusieurs techniques de fabrication.

Le système immunitaire détecte et détruit tout ce qui ne devrait pas se trouver dans l'organisme, comme les cellules normales devenues cancéreuses, en reconnaissant de subtils changements qui peuvent faire d'une cellule normale une cellule « étrangère ». En temps normal, le système immunitaire œuvre pour éliminer ces cellules anormales grâce à l'activation de cellules spécifiques, les lymphocytes T qui vont rechercher et éliminer ces potentielles menaces. Le système immunitaire ne parvient pas toujours à détecter et éliminer les cellules tumorales. En effet, certaines cellules cancéreuses développent des mécanismes pour échapper au système immunitaire.

Les récentes avancées dans la compréhension de la biologie tumorale et l'action du système immunitaire sur le cancer ont permis le développement des anticorps monoclonaux optimisés dans leur utilisation en oncologie. Ces biomédicaments ont élargi les perspectives thérapeutiques des patients atteints de cancer. Cet arsenal thérapeutique comprend des anticorps monoclonaux ciblant des antigènes tumoraux ou des molécules immunomodulatrices et des anticorps monoclonaux bispécifiques. L'efficacité des anticorps monoclonaux repose sur une réduction tumorale et l'initiation d'une réponse immunitaire adaptative par divers mécanismes. Ce mémoire reprend les anticorps monoclonaux les plus utilisés en pratique clinique en oncologie et s'intéresse également aux avancées biotechnologiques liées à l'usage de ces biothérapies ouvrant vers de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Mots clés : Anticorps monoclonaux, cancer, immunothérapie, antigènes tumoraux.

Abstract

Monoclonal antibodies are among the fastest growing pharmaceutical products for clinical trials. The immense progress made in biotechnology and in particular with the genetic recombination techniques making it possible to obtain murine, chimeric, humanized monoclonal antibodies, and more and more fully human monoclonal antibodies using several manufacturing techniques.

The immune system detects and destroys everything that should not be in the body, like normal cells that have become cancerous, recognizing subtle changes that can make a normal cell a "foreign" cell. Normally, the immune system works to eliminate these abnormal cells through the activation of specific cells, the T cells that will seek out and eliminate these potential threats. The immune system is not always able to detect and eliminate tumor cells. Indeed, some cancer cells develop mechanisms to escape the immune system.

Recent advances in the understanding of tumor biology and the action of the immune system on cancer have allowed the development of monoclonal antibodies optimized in their use in oncology. These biomedicines have broadened the therapeutic perspectives of cancer patients. This therapeutic arsenal includes monoclonal antibodies targeting tumor antigens or immunomodulatory molecules and bispecific monoclonal antibodies. The effectiveness of monoclonal antibodies is based on tumor reduction and the initiation of an adaptive immune response by various mechanisms. this memory includes the most commonly used monoclonal antibodies in clinical practice in oncology and also looks at the biotechnological and clinicalobiological advances related to the use of these biotherapies opening up new therapeutic perspectives.

Key words: Monoclonal antibodies, cancer, immunotherapy, tumor antigens, therapeutic optimization.

ملخص

الأجسام المضادة وحيدة النسيلة هي من بين أسرع المنتجات الدوائية نمواً في التجارب السريرية. التقدم الهائل الذي تم إحرازه في مجال التكنولوجيا الحيوية وخاصة مع تقنيات إعادة التركيب الوراثي التي تجعل من الممكن الحصول على الأجسام المضادة وحيدة النسيلة المؤلفة من الفئران والخيم والأجسام المضادة أحادية النسيلة البشرية بشكل كامل وكامل باستخدام العديد من تقنيات التصنيع. يكتشف الجهاز المناعي ويدمر كل ما يجب ألا يكون في الجسم، مثل الخلايا الطبيعية التي أصبحت سرطانية، وتتعرف بالتغيرات الطفيفة التي يمكن أن تجعل الخلية العادية خلية "غريبة". عادة، يعمل الجهاز المناعي على القضاء على هذه الخلايا غير الطبيعية من خلال تنشيط خلايا معينة، وهي الخلايا التائية التي ستسعى إلى القضاء على هذه التهديدات المحتملة والقضاء عليها. لا يستطيع الجهاز المناعي دائماً اكتشاف الخلايا السرطانية والقضاء عليها. في الواقع، تقوم بعض خلايا السرطان بتطوير آليات للهروب من الجهاز المناعي.

التطورات الحديثة في فهم بيولوجيا الورم وعمل الجهاز المناعي على السرطان قد سمحت بتطوير الأجسام المضادة وحيدة النسيلة الأمثل في استخدامها في علم الأورام. وسعت هذه الأدوية الحيوية من المنظورات العلاجية لمرضى السرطان. تشمل هذه الترسانة العلاجية الأجسام المضادة وحيدة النسيلة التي تستهدف مستضدات الورم أو الجزيئات المناعية والأجسام المضادة وحيدة النسيلة ثنائية الخصوصية. تعتمد فعالية الأجسام المضادة وحيدة النسيلة على الحد من الورم وبدء استجابة مناعية تكيفية بواسطة آليات مختلفة. تتضمن هذه الذاكرة أكثر الأجسام المضادة وحيدة النسيلة شيوعاً في الممارسة السريرية في علم الأورام، كما تتناول التطورات التكنولوجية الحيوية والسرولوجية البيولوجية المتعلقة باستخدام هذه العلاجات البيولوجية التي تفتح آفاقاً علاجية جديدة.

الكلمات المفتاحية: الأجسام المضادة وحيدة النسيلة، السرطان، العلاج المناعي، مستضدات الورم، التحسين العلاجي.

BIBLIOGRAPHIE

A

- Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ, Blows FM, Liu B, Shah M, *et al.* Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. *Ann Oncol* 2014; 25:1536-43.
- Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie. Immunologie fondamentale et immunopathologie. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson, DL 2013, cop. 2013 (impr. En Italie); 2013. (Campus référence).
- Aurélié BORRULL. Obtention et caractérisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre les récepteurs des endothélines, ETAR et ETBR, surexprimés dans de nombreux cancers et impliqués dans la progression tumorale ; ANNÉE 2011 – 2015. 100.
- Azambuja E, Holmes AP, Piccart-Gebhart M, Holmes E, Di Cosimo S, SwabyRF, *etal.* Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): 206 survival outcomes of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial and their association with pathological complete response. *Lancet Oncol* 2014; 15:1137-46.

B

- Bagot Jean-Lionel. L'homéopathie, une réponse intéressante aux effets secondaires des thérapies ciblées. *La Revue d'Homéopathie* 2017.4.
- Bagshawe KD, Sharma SK, Springer CJ, Rogers GT. Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). A review of some theoretical, experimental and clinical aspects. *Ann Oncol*, 1994, 5, 879-891.
- Baldacci .S, Cortot .A. Cancer bronchique ; LES MEILLEURS ARTICLES DE L'ANNÉE 2014.143.
- Barok M, Joensuu H, Isola J. Trastuzumab emtansine: mechanisms of action and drug resistance. *Breast Cancer Res* 2014; 16:209.
- Baty D, Chames P. Le point sur les anticorps autorisés en imagerie et en immunothérapie. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 2006, 21, 255-263.

-Bertrand Allard. Production et caractérisation d'anticorps polyclonaux et monoclonaux ciblant les récepteurs des endothélines en vue d'une immunothérapie des cancers ; ANNÉE 2008 – 2011.

-Bonnet C, Beguin Y, De Prijck B, et al. Anticorps monoclonaux en hématologie en 2009. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 268-273.

-Bostrom J, Yu SF, Kan D, et al. Variants of the antibody herceptin that interact with HER2 and VEGF at the antigen binding site. *Science*, 2009, 323, 1610-1614.

-Bourel D, Teillaud J-L. Anticorps monoclonaux : tours et détours technologiques pour de nouveaux espoirs thérapeutiques. *C R Biol. Avr* 2006;329(4):217-27.

C

-Campbell AM. Production and purification of antibodies, in Diamandis EP ET Christopoulos TK Ed. *Immunoassay*. Academic Press, Californie, 1996, 95-115.

-Cecile Pages, BarouyrBaroudjian, CelesteLebbe. Immunothérapie et mélanome : l'exemple des anticorps immunomodulateurs. *Bull Cancer* 2016; 103: S132–S137.

-Chames P, Baty D. Bispecific antibodies for cancer therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2009, 12, 276-283.

-Chatenoud Lucienne, Bach Jean-François. *Immunologie*, 6^e. Paris : Lavoisier, 2012, 469p.

-Christelle Souriau, The Duc Hua, Marie-Paule Lefranc, Mylène Weill. Présentation à la surface de phages filamenteux : les multiples applications du phage display. *médecine/sciences* 1998 ; 14 : 300-9. page 300.

-Christiane Schaffitzel, Jozef Hanes, Lutz Jermutus, Andreas Pluckthun. Ribosomes display m: an in vitro methode for selection and evolution of antibodies from libraries; *Journal of immunological methods* 231(1999) 119-135.

-Claire DAVID, Tomas BOINET. L'ostéoporose, une maladie silencieuse. 2019. 16.

-Clark M. Antibody humanization: a case of the «Emperor's new clothes». *Immunol Today*, 2000, 21,397-402.

-Clark M. *Immunol Today*. 2000; 21:397–402.

-Clayton R, Ohagen A, Goethals O, et al. Binding kinetics, uptake and intracellular accumulation of F105, an anti-gp120 human IgG1kappa monoclonal antibody, in HIV-1 infected cells. *J Virol Methods*, 2007, 139, 17-23.

D

- Debbage P. Targeted drugs and nanomedicine: present and future. *Curr Pharm Des*, 2009, 15, 153-172.
- Demoersman.J, Soueidan.A, Corre.P, Pers.J.O. Managing patients with therapeutic antibodies in odontostomatology. 20 mars 2014.
- Denny WA. Tumor-activated prodrugs – a new approach to cancer therapy. *Cancer Invest*, 2004, 22, 604-619.
- Dillman RO, Beauregard JC, Halpern SE, Clutter M. Toxicities and side effects associated with intravenous infusions of murine monoclonal antibodies. *J Biol Response Mod*, 1986, 5, 73-84.
- Dokter W, Ubink R, van der Lee M, van der Vleuten M, van Achterberg T, JacobsD, *etal*. Preclinical profile of the HER2-targeting ADC SYD983/SYD985: introduction of a new duocarmycin-based linker-drug platform. *Mol Cancer Ther* 2014; 13:2618-29.
- Dominique Bellet, Virginie Dangles-Marie. Anticorps humanisés en thérapeutique ; *Médecine/Sciences* 21 (2005): 1054-62.
- Dominique Bourel, Jean-Luc Teillaud. Anticorps monoclonaux : tours et détours technologiques pour de nouveaux espoirs thérapeutiques : *C. R. Biologies* 329 (2006): 219–220.
- Domitille Meyer , utilisation en vie réelle des anti-PD1 au CHU de Rouen :approche des caractéristiques patients et suivi des toxicités dans le mélanome, le cancer bronchique non à petites cellules et le carcinome à cellules rénales : étude de cohorte observationnelle rétrospective. *Sciences pharmaceutiques* .2017 p32.

E

- EMERY N, GERIN P. Comment cultiver les cellules animales. *Biofutur*, 1998; 184: 26-30.

F

- Ferretti .G.R, Reymon .E, Delouch .A, Sakhri .L, Jankowsk. A, Moro-Sibilo. D, S. Lantuejoul, A.C. Toffar. Chimiothérapies personnalisées du cancer bronchique : ce que le

radiologue doit connaître ; Journal de Radiologie Diagnostique et Interventionnelle (2017) 98, 150-151

-Feurer E, et al. Uvéites et biothérapies. Rev Med Interne (2014).

-Frankel AE, Zuckero SL, Mankin AA, et al. Anti-CD3 recombinant diphtheria immunotoxin therapy of cutaneous T cell lymphoma. *Curr Drug Targets*, 2009, 10, 104-109.

G

-Garon EB, Ciuleanu T-E, Arrieta O, Prabhaskar K, Syrigos KN, Goksel T, et al. Ramucirumab plus docetaxel versus placebo plus docetaxel for second-line treatment of stage IV non-small-cell lung cancer after disease progression on platinum-based therapy (REVEL): a multicentre, double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet* 2014;384:665-73.

-Gennigens Ch, Collignon J, Jerusalem G, et al. Anticorps monoclonaux à usage thérapeutique en hématologie-oncologie. Généralités. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 264-267.

-Gilles Paintaud. Pharmacocinétique des anticorps monoclonaux ; MEDECINE/SCIENCES 2009 ; 25 : 1057-62.

-Goldsby RA, Kindt TJ ET Osborne BA. Immunologie: Le cours de Janis Kuby. Dunod, Paris, 2003, 104-109.

-GOUBET * Anne-Gaëlle, Lisa DEROSA *, Aurélien MARABELLE *, Laurence ZITVOGEL. Anticorps monoclonaux en oncologie : déclencher une réponse immunitaire en plus de la réduction tumorale spécifique ; *Bull. Acad. Natle Méd.*, 2018, 202, nos 3-4, 707-735, séance du 3 avril 2018.

-Granier. C, S. Karaki, H. Roussel, C. Badoual, T. Tran, M. Anson, E. Fabre, S. Oudard, E. Tartour .cancer immunotherapy: Rational and recent breakthroughs. La Revue de médecine interne (2016).p06.

-Groot A.F, Appelman-Dijkstra. N.M, S.H. van der Burg, J.R. Kroep . The anti-tumor effect of RANKL inhibition in malignant solid tumors – A systematic review. *Cancer Treatment Reviews* 62 (2018) 18–28.

H

-Hélène Denis, Claire Davoine, Elisabeth Bermudez, Ghislain Grosjean, Manon Schwager, Norbert Ifrah, Muriel Dahan, Sophie Negellen, Les immunothérapies spécifiques dans le traitement des cancers. *Bull Cancer* 2019; 106: 37–47.

-Hervent AS, De Keulenaer GW. Molecular mechanisms of cardiotoxicity induced by ErbB receptor inhibitor cancer therapeutics. *Int J Mol Sci* 2012; 13:12268-86.

-Hiroyuki Ohashi, Yoshihiro Shimizu, Bei-Wen Ying, Takuya Ueda. Efficient protein selection based on ribosome display system with purified components. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 352 (2007): 270–276.

-Hirsch B, Brauer J, Fischdick M, et al. Anti-CD30 human IL-2 fusion proteins display strong and specific cytotoxicity *in vivo*. *Curr Drug Targets*, 2009, 10, 110-117.

-Hoogenboom HR, Allen DJ, Roberts AJ. In: McCafferty J, Hoogenboom HR, Chiswell D, editors. *Antibody Engineering. A Practical Approach.*, Vol. 169. Oxford: Oxford University Press; 1996. p. 169–85.

-HRIROU Ibrahim. LES ANTICORPS MONOCLONAUX THERAPEUTIQUE ; 2011.68-69

-Hudson PJ, Souriau C. Engineered antibodies. *Nat Med*, 2003, 9, 129-134.

J

-Johnson DB, Balko JM, Compton ML, Chalkias S, Gorham J, Xu Y, *et al.* Fulminant Myocarditis with Combination Immune Checkpoint Blockade. *N Engl J Med*. 2016;375(18):1749-55.

-Judy A. Owen., Jenni Punt., Sharon A. Stranford., *Immunologie*, 7^e édition. Paris : Dunod, juin 2014,800p.

K

-Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, 256, 495-497.

-Krop IE, Kim SB, Gonzalez-Martin A, LoRusso PM, Ferrero JM, Smitt M, *et al.* Trastuzumab emtansine versus treatment of physician's choice for pretreated HER2- positive advanced breast cancer (TH3RESA): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15:689-99.

L

-Laetitia They. Renforcement des effets immunomodulateurs d'un anticorps monoclonal anti-tumoral : étude des effets potentialisateurs de thérapies combinées et analyse des mécanismes impliqués. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2018. Français.

-Leenaars M, Hendriksen CF. Critical steps in the production of polyclonal and monoclonal antibodies: evaluation and recommendations. *ILAR J*, 2005, 46, 269-279.

-Li J, Zhu Z. Research and development of next generation of antibody-based therapeutics. *Acta Pharmacol Sin* 2010;31:1198e207.

-Little .M, Kipriyanov .S.M, Le Gall .F and Moldenhauer.G. Of mice and men: hybridoma and recombinant antibodies. *Immunol Today* 21 (2000): 364-370.

-Longvert*.C, Saiag .P, Actualités dans le mélanome cutané. *La Revue de médecine interne* (2018) p 3.

M

-Maggon K. Monoclonal antibody “Gold Rush”. *Curr Med Chem* 2007; 14(8): 1978e87.

-Majenka .P, Hoffmann .M, I. Ro” tzer b, A. Dimitrakopoulou-Strauss c, R. Koschny d, T. Longerich e, A. Enk a, J.C. Hassel a, Diet-dependent toxicity of ipilimumab in metastatic Melanoma. *European Journal of Cancer* 106 (2019) 220e224.

-Marion Rouault. Des balles magiques de Paul Ehrlich aux anticorps monoclonaux dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde. *Sciences du Vivant [q-bio]*. 2017. <dumas-01811235> page 39 – 40.

-Martin Turcotte, CD73 : Cible thérapeutique dans le cancer de l’ovaire et le cancer du sein HER2. *Faculté de Pharmacie*, 2018.

-Mathew M, Verma RS. Humanized immunotoxins: a new generation of immunotoxins for targeted cancer therapy. *Cancer Sci*, 2009, May 19. Epub ahead of print.

-Mazhoura Ait Mebarek. Nouvelles approches méthodologiques pour l’obtention d’anticorps humains monoclonaux. *Médecine humaine et pathologie*. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. la page 27.

-Michaël Duruisseaux, Isabelle Rouquette, Julien Adam, Alexis Cortot, Aurélie Cazes, Laure Gibault, Diane Damotte, Sylvie Lantuejoul. Efficacité des inhibiteurs du *checkpoint* immunitaire PD-1/PD-L1 et *testing* PD-L1 dans les cancers thoraciques ; *Annales de pathologie* (2017). P2-3.

-Michel Cogné, Sophie Duchez, Virginie Pascal . Transgénèse animale et humanisation des anticorps ; *Médecine sciences : M/S* 25, 12 (2009) : 1149-54.

-Mistretta V, Cavalier E, Collette J, Chapelle J.P. Production des anticorps monoclonaux. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 248-252.

- Mistretta V, Cavalier E, Collette J, et al. Intérêt des anticorps monoclonaux dans le laboratoire d'analyses médicales. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 257-263.
- Mould DR, Sweeney KR. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies - mechanistic modeling applied to drug development? *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2007, 10, 84-96.
- Moutschen. M (1), Scheen. A.J (2). BASES IMMUNOLOGIQUES à LA COMPREHENSION DU CONCEPT D'ANTICORPS MONOCLONAL ; *Rev Med Liège* 2009; 64 : 5-6 : 237-243.

N

- Nelly ETIENNE-SELLOUM. La prise en charge du cancer colorectal ; Actualités pharmaceutiques, juin 2018 .30-31.
- Nelson AL, Dhimolea E, Reichert JM. Development trends for human monoclonal antibody therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9(10):767e74.
- NOUAR Saad Charef-eddine. LES ANTICORPS MONOCLONAUX COMME BIOSIMILAIRES THERAPEUTIQUES : CIBLES, MODES D' ACTIONS ET ASPECTS PHARMACO-ECONOMIQUES. LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE le 15 Juin2015.p88/90.

O

- OPDIVO et YERVOY – Mélanome avancé ou métastatique. Avis de refus d'ajout d'une indication reconnue à la Liste Établissements – Médicament d'exception. 2017.

P

- Padlan EA. A possible procedure for reducing the immunogenicity of antibody variable domains while preserving their ligand-binding properties. *Mol Immunol* 1991 ; 28 : 489-98.
- Parham Peter., le système immunitaire. Édition de boeck Université, 2003, 407p.
- Professeurs Marie-Paule LEFRANC, Mylène WEILL, The Duc HUA, Christelle SOURIAU et Gérard LEFRANC. Présentation à la surface de phages filamenteux : les multiples applications du phage display. Last updated: 10-Jan-2013.

R

-Reynaud .Q, Killian. M, Robles .A, Mounsef .F, J.-P. Camdessanché, C. Mariat , P. Cathébras. Le rituximab dans la vraie vie : revue d'utilisation du rituximab de 2010 à 2013 au CHU de Saint-Étienne, *Rev Med Interne* 2015.pg2.

-Riechmann L, Clark M, Waldmann H, Winter G. Reshaping human antibodies for therapy. *Nature*, 1988, 332,323 327.

-Rita Nahta, Francisco J. Esteva.Herceptin: mechanisms of action and resistance. *Cancer Letters* 232 (2006) 123–138.

-Roguska MA, Pedersen JT, Keddy CA, *et al.* Humanization of murine monoclonal antibodies through variable domain resurfacing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 969-73.

S

-Saad Charef-eddine NOUAR. LES ANTICORPS MONOCLONAUX COMME BIOSIMILAIRES THERAPEUTIQUES : CIBLES, MODES D' ACTIONS ET ASPECTS PHARMACO-ECONOMIQUES. LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE GRENOBLE le 15 Juin2015.p88/90.

-Saillard Mélanie. Traitements anti angiogéniques dans le cancer du sein : place de l' Avastin® ; 2014.137-138-139.

-Saillard Mélanie. Traitements anti angiogéniques dans le cancer du sein : place de l' Avastin® ; 2014.137-138-139.

-Saleem A, Searle GE, Kenny LM, Huiban M, Kozlowski K, Waldman AD, *et al.* Lapatinib access into normal brain and brain metastases in patients with Her-2 overexpressing breast cancer. *EJNMMI Res* 2015;5:30.

-Schaedel O, Reiter Y. Antibodies and their fragments as anti-cancer agents. *Curr Pharm Res*, 2006, 12, 363-378.

-Scheen AJ, Moutschen M. Editorial. Les anticorps monoclonaux en thérapeutique. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 233-236.

-Scheen AJ. Nomenclature internationale des différents types d' anticorps monoclonaux. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 244-247.

- Scheen AJ. Nouvelles avancées dans l'utilisation des anticorps monoclonaux en thérapeutique. *Rev Med Liège*, 2009, 64, 253-256.
- Scheen. A.J, Moutschen. M. Les anticorps monoclonaux en thérapeutique ; *Rev Med Liège* 2009; 64 : 5-6 : 233-236.
- Schneemann A, Manchester M. Anti-toxin antibodies in prophylaxis and treatment of inhalation anthrax. *Future Microbiol*, 2009, 4, 35-43.
- Sébastien FAURE. Thérapies ciblées anticancéreuses (1/2) ; Faculté de pharmacie, France, 2015.59.
- Senter PD. Potent antibody drug conjugates for cancer therapy. *Curr Opin Chem Biol*, 2009, May 2. Epub ahead of print.
- Siberil S, Dutertre CA, Boix C, et al. Anticorps monoclonaux à usage thérapeutique: un peu d'histoire, beaucoup d'ingénierie, et ... quelques succès cliniques. *Transf Clin Biol*, 2005, 12, 114-122.
- Sibilia .J, Sordet .C . Le rituximab : une biothérapie originale dans les maladies auto-immunes ; *La revue de médecine interne* 26 (2005) 485–500).
- Sofou S, Sgouros G. Antibody-targeted liposomes in cancer therapy and imaging. *Expert Opin Drug Deliv*, 2008, 5, 189-204.
- Stasi R, Evangelista ML, Buccisano F, et al. Gemtuzumab ozogamicin in the treatment of acute myeloid leukemia. *Cancer Treat Rev*, 2008, 34, 49-60.
- Swain SM, Kim SB, Cortes J, Ro J, Semiglazov V, Campone M, et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2013; 14:461 -71.

T

- Tamura M, Milenic DE, Iwahashi M, et al. Structural correlates of an anticarcinoma antibody: identification of specificity-determining residues (SDRs) and development of a minimally immunogenic antibody variant by retention of SDRs only. *J Immunol* 2000 ; 164 : 1432-41.
- Taskar KS, Rudraraju V, Mittapalli RK, Samala R, Thorsheim HR, Lockman J, et al. Lapatinib distribution in HER2 overexpressing experimental brain metastases of breast cancer. *Pharm Res* 2012; 29:770-81.

-Teillaud JL. Qu'est-ce qu'une biothérapie ? L'exemple des anticorps monoclonaux. *Presse Med*, 2009, 38, 825-831.

V

-Van der Lee MM, Groothuis PG, Ubink R, van der Vleuten MA, van Achterberg TA, Loosveld EM, *et al.* The Preclinical Profile of the Duocarmycin-Based HER2-Targeting ADC SYD985 Predicts for Clinical Benefit in Low HER2-Expressing Breast Cancers. *Mol Cancer Ther* **2015**; 14:692-703.

-Virginie pascal. Vers l'utilisation des immunoglobulines A humaines ou de leurs variantes à des fins thérapeutiques .Université de Limoges.2009.22-23.

-Virginie pascal. Vers l'utilisation des immunoglobulines A humaines ou de leurs variantes à des fins thérapeutiques .Université de Limoges.2009.22.

-Vozy A. Coutzac .C. ColitisInduced by Immune Checkpoint Inhibitors: Anti-CTLA-4 Antibodies and Anti- PD-1/PDL-1 Antibodies, *Oncology* (2016) .501-508.

W

-Waldmann, Thomas A. Immunotherapy: past, present and future. *Nat Med*, 2003, 9, 269–277.

X

-Xiao-Dong Yang, Xiao-Chi Jia, Jose R.F. Corvalan, Ping Wang, C. Geoffrey Davis. Development of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody, for cancer therapy. *Critical Reviews in Oncology:Hematology* 38 (2001): 17–23.

Z

-Zaheer Sarah, 1 Meryl LeBoff, 1 and E. Michael Lewiecki². Denosumab for the Treatment of Osteoporosis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015 Mar; 11(3): 461–470.

-Zhang W, Feng J, Li Y, *et al.* Humanization of an anti-human TNF-alpha antibody by variable region resurfacing with the aid of molecular modeling. *Mol Immunol* 2005; 42: 1445-

Webographie

- (1) <http://xray.bmc.uu.se/lars/Practicals/Immun/antibody.html>. (Consulté le 15/03/2019).
- (2) Source du schéma : Joost Bakker, Genmab. (Consulté le 04/04/2019).
- (3) <http://www.ccAcca>. (Consulté le 26/04/2019).
- (4) Source : monde.ccdmd.qc.ca. (Consulté le 09/05/2019).
- (5) www8.umoncton.ca/umcm-gauthier_didier/siitub/idprepab.html. (Consulté le 21/05/2019).
- (6) <https://www.who.int/cancer/fr/>. (Consulté le 01/06 /2019).
- (7) <https://www.memoireonline.com>. (Consulté le 10/06/2019).
- (8) <http://www.docteurlic.com/maladie/metastase.aspx>. (Consulté le 19/06/2019).
- (9) <http://smart.servier.com/>. (Consulté le 22/06/2019).