

qu'aux tissus normaux : on couple l'anticorps à un isotope radioactif de l'iode (l'iode 131), puis on l'injecte à des volontaires que l'on examine ensuite par des techniques d'imagerie médicale ; une biopsie précise l'accumulation de l'anticorps marqué dans la tumeur. Aucun antigène cible connu à ce jour n'étant exclusivement tumoral, les techniques d'imagerie sont cruciales dans l'évaluation de la quantité d'anticorps présents dans les tissus normaux.

La mise au point d'un traitement utilisant un anticorps est longue et coûteuse : voilà pourquoi la transformation

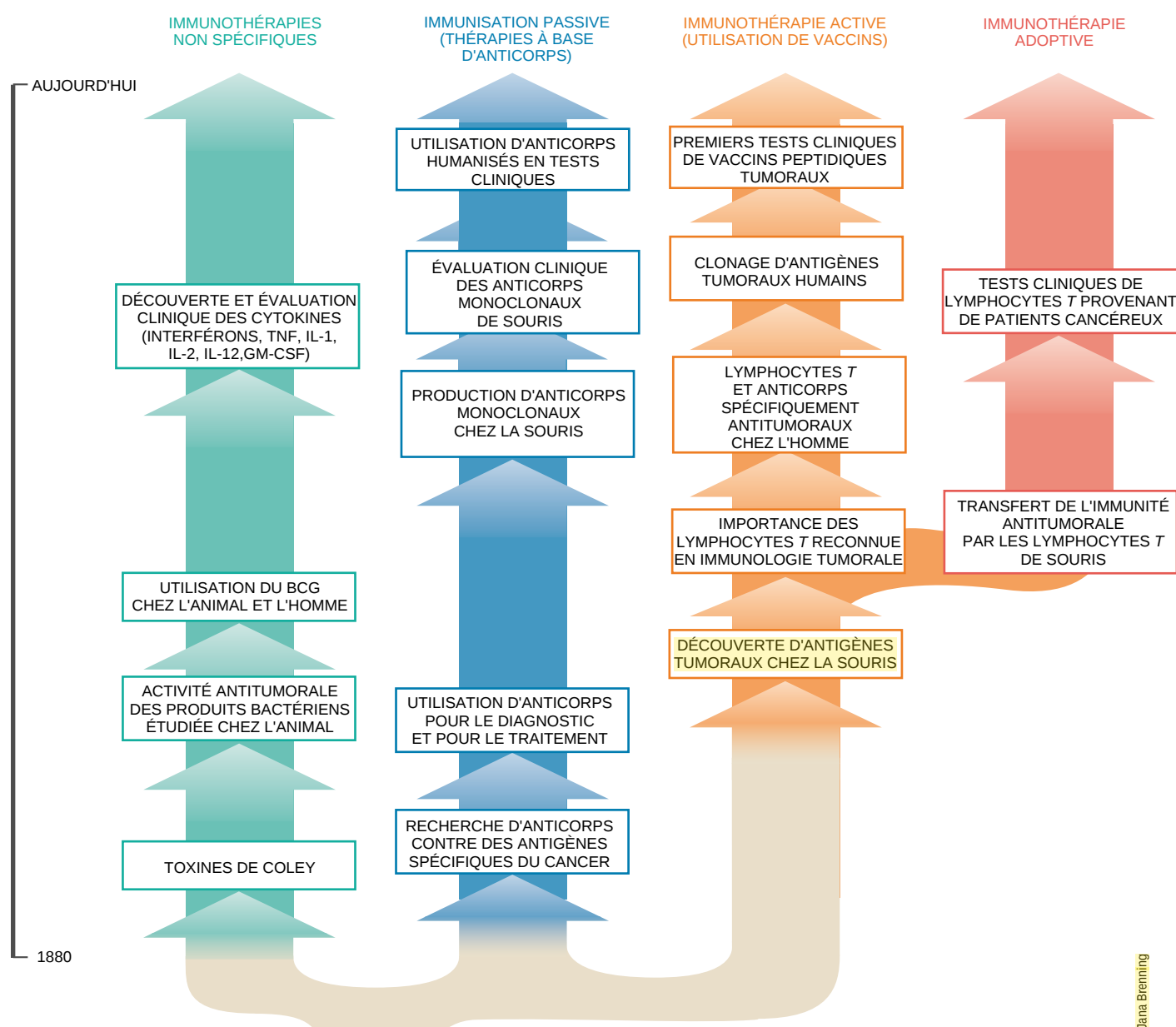
d'idées intéressantes en progrès cliniques est beaucoup plus lente que souhaitée. Avec Sydney Welt, nous étudions par exemple l'anticorps monoclonal murin A33, qui reconnaît un antigène exprimé par les cellules normales de l'intestin et par la plupart des cancers du côlon. Les tests cliniques ont montré que 0,01 pour cent de la quantité d'anticorps A33 marqué chimiquement ou radioactivement s'accumule dans la masse tumorale du cancer du côlon et qu'une proportion notable d'anticorps atteint le centre de la tumeur.

Ces résultats encourageants ont justifié le passage à l'étape suivante : les

essais cliniques à visée thérapeutique. Nous avons augmenté la radioactivité de l'anticorps, afin d'irradier et de détruire les cellules tumorales. Nous avons étudié deux questions fondamentales : les anticorps atteignant les cellules tumorales sont-ils assez nombreux pour détruire la tumeur, et quel est l'effet des anticorps radiomarqués sur les cellules normales du système digestif ?

Une seule dose d'anticorps était injectée, car les caractéristiques murines de l'anticorps provoquaient une réaction immunitaire qui neutralisait finalement l'anticorps (des injections de rappel sont

L'HISTOIRE DE L'IMMUNOTHÉRAPIE DES TUMEURS



Jana Brenning

Des agents antitumoraux transportés par des anticorps

Les anticorps se fixent sur des antigènes à la surface des cellules cancéreuses. Ils signalent ainsi ces cellules à d'autres composants immunitaires aptes à les détruire, ou déclenchent l'autodestruction des cellules marquées. Les anticorps peuvent également endommager les vaisseaux sanguins qui irriguent les tumeurs ou le tissu conjonctif qui les entoure. Ils peuvent neutraliser les facteurs de croissance (des substances nécessaires à la prolifération tumorale) ou transporter dans les tumeurs des composés toxiques :



LES ISOTOPES RADIOACTIFS tels l'iode 131 ou l'yttrium 99 tuent les cellules cancéreuses en endommageant leur ADN.

D'AUTRES TOXINES transportées par des anticorps peuvent atteindre la tumeur. Ainsi la ricine inhibe la synthèse des protéines et la croissance tumorale *in vitro*. D'autres toxines des bactéries et d'autres micro-organismes tuent également les cellules cancéreuses, et beaucoup de molécules cancértoxiques (comme le CC1056 et les maytansinoïdes) sont plus efficaces quand elles sont couplées à un anticorps.



LES MÉDICAMENTS UTILISÉS en chimiothérapie atteignent souvent les tumeurs en quantités supérieures lorsqu'elles sont portées par des anticorps (elles sont donc plus efficaces).

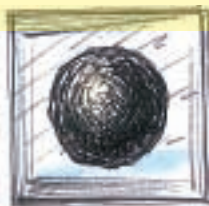
LES ENZYMES qui transforment des «prodrogues» inoffensives en produits cytotoxiques sont acheminées dans les cellules tumorales par les anticorps. Comme ces enzymes n'activent les prodrogues que dans les tumeurs, elles n'endommagent pas les tissus sains.



LES DROGUES GÉNÉTIQUES sont variées. Les molécules d'ADN antisens bloquent la production de protéines dont les cellules cancéreuses ont besoin pour proliférer. D'autres gènes codent des protéines qui inhibent ou tuent les cellules cancéreuses. Ces gènes peuvent être directement couplés à des anticorps ou à des particules virales dont la surface porte des anticorps.

LES MOLÉCULES INFLAMMATOIRES, comme le TNF, d'autres molécules immunitaires ou des produits d'origine bactérienne peuvent provoquer une réaction inflammatoire qui détruit le tissu tumoral.

DES CELLULES IMMUNITAIRES, tels les lymphocytes T, peuvent détruire les tumeurs, si elles sont guidées par les anticorps.



inutiles, car le système immunitaire élimine le médicament avant qu'il n'atteigne la tumeur). Pourtant les tumeurs ont régressé chez certains patients.

Nous avons été surpris d'observer que l'anticorps n'endommage pas les cellules intestinales normales, malgré sa concentration notable dans ces tissus. Apparemment les cellules normales, contrairement aux cellules tumorales, excrètent rapidement l'anticorps, l'empêchant ainsi d'agir. Enfin une version humanisée de A33 est aujourd'hui testée cliniquement. Ainsi l'antigène a été identifié en 1982, la première étude clinique a commencé en 1988, les essais thérapeutiques en 1991, et les anticorps humanisés ont été injectés aux premiers patients en 1995.

Aujourd'hui la plus belle réussite est l'étude d'un anticorps qui reconnaît un antigène présent à la surface des lymphocytes B (les cellules immunitaires qui, une fois activées, produisent les anticorps) normaux ou cancéreux. À Boston, Stuart Schlossmann a décrit cet antigène cible, nommé CD20, qui est aujourd'hui étudié par de nombreuses équipes. Les résultats sont impressionnants : utilisé seul, l'anticorps fait régresser la tumeur ; associé à l'iode 131, il a une action renforcée et durable, sans provoquer d'effet secondaire. Ainsi, conformément aux espérances, les immunothérapies peuvent, dans certains cas, se fonder sur un antigène cible exprimé par les cellules normales.

Comme la plupart des thérapies expérimentales du cancer, l'immunothérapie est testée chez des personnes dont la maladie est avancée. Toutefois ces méthodes seraient plus efficaces si elles étaient utilisées plus tôt. À l'Université de Munich, Gert Riethmüller a étudié l'effet de l'anticorps monoclonal 17.1A sur les cancers colorectaux à des stades précoces. Le traitement a été administré dès l'exérèse chirurgicale des tumeurs. Malgré l'opération, les malades risquent normalement de rechuter à cause des cellules résiduelles. G. Riethmüller a montré que les personnes traitées avec l'anticorps ont un pronostic amélioré. Le traitement des cellules cancéreuses qui ont échappé à l'intervention chirurgicale (ou qui se sont dispersées dans l'organisme) représentera sans aucun doute une des indications de l'immunothérapie.

Des vaccins prometteurs

Dans les immunothérapies que nous avons considérées, les anticorps injectés sont produits chez les animaux ;

à l'avenir, ils pourraient être synthétisés *in vitro*. Toutefois, quel que soit le type de préparation retenu, l'immunothérapie est passive : les molécules immunitaires ne sont pas produites par

les patients, mais leur sont injectées. Les vaccins, au contraire, sont des traitements actifs : ils provoquent une réaction immunitaire chez les personnes traitées.

L'analyse des réactions antitumorales

Pourquoi les cellules cancéreuses qui portent des antigènes étrangers ne sont-elles pas éliminées systématiquement par le système immunitaire ? Habituellement, lorsque des cellules, par exemple infectées par un virus, contiennent des protéines différentes des composants du «soi», elles sont reconnues par certains lymphocytes *T* CD8, qui se divisent, puis se différencient et tuent les cellules infectées. Les expériences *in vitro* ont montré que les cellules tumorales sont sensibles à cette destruction par des lymphocytes *T* cytotoxiques. Pourtant, les régressions spontanées de tumeurs sont exceptionnelles chez les personnes souffrant de cancer.

De nombreuses explications à ce phénomène ont été avancées (voir le tableau de la page 114), mais, si chacune s'applique dans un modèle expérimental de cancer, chez l'animal, on ignore généralement laquelle est valable dans les divers cancers humains. Cela gêne le développement de thérapies efficaces : une tumeur qui échappe à la réaction immunitaire par perte d'antigène ne répondra pas aux mêmes types de traitements qu'une tumeur qui produit des molécules immunosuppressives.

Afin de répondre à la question, nous avons mis au point, dans le laboratoire dirigé par Philippe Kourilsky à l'Institut Pasteur, une nouvelle approche pour l'analyse des réactions antitumorales. Cette méthode, nommée immunoscope, repose sur des techniques de biologie moléculaire, essentiellement la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) : on détermine la distribution des réarrangements pour les gènes qui codent les récepteurs des lymphocytes *T* (ces gènes sont constitués de sous-unités réarrangées de manières très diverses au cours de la maturation des lymphocytes). L'originalité de la méthode tient notamment au fait qu'elle per-

met de mesurer environ 2 000 paramètres d'une façon largement automatisable, de sorte qu'on peut l'appliquer à un grand nombre d'échantillons. Un de ses principaux avantages par rapport aux techniques classiques d'analyse des cellules cytotoxiques est qu'elle permet de détecter, avec une très grande sensibilité, des cellules spécifiques des tumeurs dans n'importe quel tissu, indépendamment de l'état fonctionnel de ces cellules et sans imposer des étapes de culture *in vitro*. Elle permet aussi d'évaluer l'état d'activité des cellules immunitaires dans ces tissus, grâce au dosage des ARN messagers de cytokines. Son champ d'application dépasse d'ailleurs largement le domaine de l'immunité antitumorale.

Appliquée chez la souris, cette méthode a fourni des résultats inattendus. On sait, de longue date, immuniser des souris contre certaines lignées tumorales, telles que le mastocytome P815. Si l'on inocule à ces souris vaccinées des cellules tumorales par voie sous-cutanée, un nodule apparaît au site d'injection, mais il est bientôt infiltré par de nombreuses cellules immunitaires, et régresse, puis disparaît. Parmi ces cellules infiltrantes, on observe notamment des lymphocytes *T* cytotoxiques, spécifiques de cette souche tumorale, qui sont les principaux artisans de la destruction de la tumeur. La même souche tumorale, inoculée à une souris non vaccinée, provoque l'apparition d'une tumeur dont la croissance est régulière et qui provoque la mort de l'animal. Pourtant, nous avons observé que ces tumeurs en croissance sont également infiltrées par des cellules *T* spécifiques de la tumeur, apparemment identiques à celles qui détruisent les tumeurs rejetées.

Cette observation suggère que ces lymphocytes potentiellement cyto-

toxiques pourraient présenter des différences fonctionnelles majeures, selon les conditions dans lesquelles elles rencontrent l'antigène tumoral – il est même concevable que ces cellules, au lieu d'un rôle de destruction, puissent jouer un rôle de protection des cellules cancéreuses, hypothèse proposée il y a longtemps, mais que nous sommes désormais en mesure de vérifier expérimentalement. Nous étudions également le rôle que jouent les cellules immunitaires dites non spécifiques, tels les macrophages, les cellules *NK*, les granulocytes, prépondérantes dans la réaction précoce contre la tumeur, et qui orientent probablement la réaction finale.

Chez l'homme, l'immunoscope constitue un outil de choix pour le suivi des protocoles d'immunothérapie. Nous l'utilisons en collaboration avec des cliniciens pratiquant en France des essais cliniques d'immunothérapie de divers cancers, à l'Institut Curie ou à l'Institut Gustave Roussy notamment, ainsi qu'à l'étranger. On peut en effet, à partir de prélèvements sanguins successifs, mesurer rapidement la taille de la population d'un ou plusieurs clones de cellules cytotoxiques spécifiques de la tumeur, ce qui permet de savoir si les traitements ont, ou non, induit une multiplication de ces cellules. L'analyse de tumeurs excisées chirurgicalement, ou même de biopsies, peut aussi fournir de précieuses indications sur la nature des lymphocytes *T* infiltrants et sur l'état immunologique du patient. De telles informations seront sans doute utiles pour aider à évaluer les approches d'immunothérapie, de plus en plus prometteuses, qui font aujourd'hui l'objet d'essais cliniques.

J.-P. LEVRAUD et Ch. PANNETIER
Unité de biologie moléculaire
du gène – Institut Pasteur, Paris